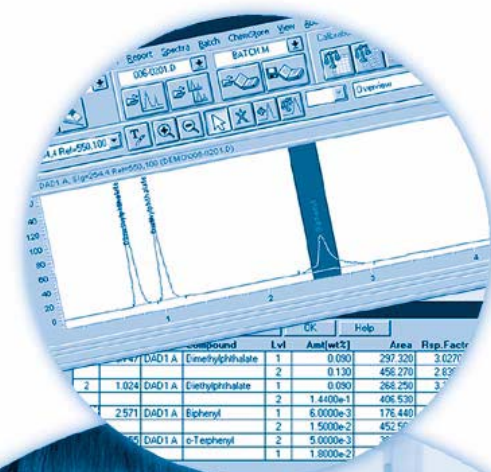


ChemStation Agilent



**Comprendre votre
ChemStation Agilent**



Agilent Technologies

Avertissements

© Agilent Technologies, Inc. 2004, 2005

Conformément aux lois nationales et internationales relatives à la propriété intellectuelle, toute reproduction totale ou partielle de ce manuel sous quelque forme que ce soit, par quelque moyen que ce soit, voie électronique ou traduction, est interdite sans le consentement écrit préalable de la société Agilent Technologies, Inc.

Microsoft® est une marque déposée de Microsoft Corporation aux États-Unis

Référence du manuel

G2070-93121

Edition

05/05

Imprimé en Germany

Agilent Technologies
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn, Germany

Révision du logiciel

Ce guide correspond aux révisions B.01.xx du logiciel ChemStation Agilent CPL, où xx désigne les révisions mineures du logiciel sans influence sur l'exactitude technique de ce guide.

Garantie

Les informations contenues dans ce document sont fournies " en l'état " et pourront faire l'objet de modifications sans préavis dans les éditions ultérieures. Dans les limites de la législation en vigueur, Agilent exclut en outre toute garantie, expresse ou implicite, quant à ce manuel et aux informations contenues dans ce dernier, notamment, mais sans s'y restreindre, toute garantie marchande et aptitude à un but particulier. En aucun cas, Agilent ne peut être tenu responsable des éventuelles erreurs contenues dans ce document, ni des dommages directs ou indirects pouvant découler des informations contenues dans ce document, de la fourniture, de l'usage ou de la qualité de ce document. Si Agilent et l'utilisateur ont souscrit un contrat écrit distinct dont les conditions de garantie relatives au produit couvert par ce document entrent en conflit avec les présentes conditions, les conditions de garantie du contrat distinct se substituent aux conditions stipulées dans le présent document.

Licences technologiques

Le matériel et le logiciel décrits dans ce document sont protégés par un accord de licence et leur utilisation ou reproduction sont soumises aux termes et conditions de ladite licence.

Limitation des droits

L'utilisation du logiciel dans le cadre d'un contrat principal ou de sous-traitance avec le Gouvernement américain est soumise à la réglementation fédérale des États-Unis régissant les logiciels informatiques commerciaux (DFAR 252.227-7014, juin 1995) ou les produits commerciaux (FAR 2.101(a)) ou les logiciels informatiques sous licences (FAR 52.227-19, juin 1987) ou toute régle-

mentation ou clause de contrat équivalente. L'utilisation, la duplication ou la publication de ce logiciel est soumise aux termes de la licence commerciale standard délivrée par Agilent Technologies. Conformément à la directive FAR 52.227-19(c)(1-2) (juin 1987), les droits d'utilisation accordés aux départements et agences rattachés au Gouvernement américain sont limités aux termes de la présente limitation des droits. Les droits d'utilisation accordés au Gouvernement américain dans le cadre des données techniques sont limités conformément aux directives FAR 52.227-14 (juin 1987) ou DFAR 252.227-7015 (b)(2) (novembre 1995).

Mentions de sécurité

ATTENTION

Une mention **ATTENTION** signale un danger. Si la procédure, le procédé ou les consignes ne sont pas exécutés correctement, le produit risque d'être endommagé ou les données d'être perdues. En présence d'une mention **ATTENTION**, vous devez continuer votre opération uniquement si vous avez totalement assimilé et respecté les conditions mentionnées.

AVERTISSEMENT

Une mention **AVERTISSEMENT** signale un danger. Si la procédure, le procédé ou les consignes ne sont pas exécutés correctement, les personnes risquent de s'exposer à des lésions graves. En présence d'une mention **AVERTISSEMENT**, vous devez continuer votre opération uniquement si vous avez totalement assimilé et respecté les conditions mentionnées.

Dans ce guide...

Ce guide décrit les différents concepts de la ChemStation Agilent. Son but est d'étendre votre compréhension sur la façon dont fonctionne la ChemStation.

1 Caractéristiques des ChemStations

Ce chapitre décrit les principaux éléments et fonctions de la ChemStation.

2 Méthodes

Ce chapitre décrit les notions de méthode et explique comment travailler avec ces méthodes.

3 Acquisition des données

Ce chapitre décrit les notions d'acquisition de données, de fichier de données, de journal et autres.

4 Intégration

Ce chapitre décrit les notions d'intégration par les algorithmes de l'intégrateur de la ChemStation.

5 Quantification

Ce chapitre décrit l'algorithme de l'intégrateur standard, l'intégration et l'intégration manuelle.

6 Identification des pics

Ce chapitre décrit l'intégrateur amélioré. Il explique comment intégrer des pics dans des cas réels, et comment utiliser l'intégrateur amélioré.

7 Etalonnage

Ce chapitre décrit les notions d'identification de pic.

8 Automatisation

Ce chapitre décrit la méthode de quantification utilisée par la ChemStation. Il fournit des détails sur les calculs area% et height%, d'étalon externe (ESTD), les calculs de norm%, d'étalon interne (ISTD) et de quantification des pics non identifiés.

9 La revue des lots

Ce chapitre décrit l'étalonnage dans la ChemStation.

10 Utilisation des rapports générés par la ChemStation Agilent

Ce chapitre décrit les notions d'automatisation. Il explique comment travailler avec des séquences dans la ChemStation, ce qui se passe à l'exécution d'une séquence et comment personnaliser des séquences.

11 Evaluation de l'adéquation du système

12 Vérification du système

Sommaire

1	Caractéristiques des ChemStations	17
	Description générale	18
	Modules d'instrument additionnels	19
	Modules additionnels d'évaluation des données	20
	Modules dédiés à l'évaluation de données	21
	Matériel ChemStation	22
	A propos du logiciel ChemStation	23
	Système d'exploitation	23
	Méthodes et séquences	23
	Configuration du système	23
	Modèle de données	24
	Conventions de noms de fichiers	25
	Interface utilisateur du logiciel	28
	Acquisition des données	29
	Analyse des données — Affichage	30
	Analyse des données — Intégration	31
	Possibilités d'intégration	31
	Analyse des données — Quantification	33
	Analyse des données — Rapport standard	33
	Analyses des données — Rapport spécifique	34
	Utilitaires et compatibilités	37
	Personnalisation	38
	Automatisation	39
	Bonnes pratiques de laboratoire (BPL)	40

Contrôle des instruments	44
La mise en réseau	44
Documentation	45
La structure des répertoires ChemStation	47
2 Méthodes	51
Qu'est-ce qu'une méthode ?	52
Parties d'une méthode	53
Information de méthode	53
Contrôle d'instrument	53
Analyse des données	54
Liste de contrôle d'exécution	55
Etat des méthodes	56
Méthode stockée	56
Méthode en cours	56
Création de ces méthodes	57
Modification des méthodes	58
Parties de la méthode à modifier	59
Structure du répertoire des méthodes	60
Que se passe-t-il lorsqu'une méthode est exécutée ?	61
Fonctionnement de la méthode	62
Commande ou macro pré-analytique	62
Acquisition des données	62
Analyse des données	63
Analyse personnalisée des données	64
Enregistrement des données BPL	65
Commande ou macro post-analytique	65
Sauvegarde d'une copie de la méthode avec les données	65
Résumé du fonctionnement de la méthode	66

3	Acquisition des données	67
	Qu'est-ce que l'acquisition des données ?	68
	Fichiers de données	69
	Moniteurs en ligne	70
	Moniteur de signaux en ligne	70
	Moniteur de spectres en ligne	70
	Logbook	71
	Informations d'état	72
	Etat de la ChemStation	72
	Barre d'état	72
	Diagramme du système	73
4	Intégration	75
	Qu'est-ce que l'intégration ?	77
	Que fait l'intégration ?	77
	Les algorithmes d'intégration de la ChemStation	78
	Possibilités d'intégration	78
	Description générale	80
	Définition de la ligne de base initiale	81
	Suivi de la ligne de base	81
	Attribution de la ligne de base	82
	Identification des points cardinaux d'un pic	84
	Terminologie	85
	Points cardinaux	85
	Pic de solvant	85
	Epaulements (avant, arrière)	86
	Pente	86
	Principe de fonctionnement	87

Identification d'un pic	88
Largeur du pic	88
Filtres de reconnaissance de pic	89
Regroupement de tranches d'intégration	90
L'algorithme de reconnaissance du pic	92
Calculs non Gaussiens	95
Attribution de la ligne de base	97
Construction de la ligne de base par défaut	97
Le début de la ligne de base	98
Graduations	98
La fin de la ligne de base	98
Pénétration de la ligne de base	99
Advanced Baseline Tracking (Suivi évolué de la ligne de base)	100
Intégration tangentielle	102
Pics non attribués	108
Codes de séparation des pics	109
Caractères 1 et 2	109
Caractère 3	109
Caractère 4	110
Mesure de l'aire du pic	111
Détermination de l'aire	112
Unités et facteurs de conversion	113
Evénements d'intégration	114
Evénements initiaux	114
Largeur du pic	115
Rejet de hauteur et de largeur de pic	116
Optimisation de l'intégration	116
Evénements chronoprogrammés	117

Auto-intégration	118
Description générale	118
Principes de fonctionnement	118
Paramètres d'auto-intégration	119
Intégration manuelle	120
Description générale	120
Codes de séparation de pics pour les pics intégrés manuellement	121
Documentation des événements d'intégration manuelle	121
5 Quantification	123
Qu'est-ce que la quantification ?	124
Calculs de quantification	125
Facteurs de correction	126
Facteur de réponse absolu	126
Multiplicateur	126
Facteur de dilution	126
Quantité d'échantillon	127
Procédures de calculs non étalonnés	128
Aire% et Hauteur%	128
Procédures de calculs étalonnés	129
Calcul ESTD	130
Calcul Norm%	132
Calcul ISTD	133
Analyse 1 : Etalonnage	134
Analyse 2 : Echantillon inconnu	135
Calcul ISTD des pics étalonnés	135
Calcul ISTD des pics non étalonnés	136

6	Identification des pics	137
	Qu'est ce que l'identification des pics ?	138
	Règles de correspondance des pics	139
	Types d'identification des pics	140
	Temps de rétention/migration absolu	140
	Temps de rétention/migration corrigé	140
	Qualificateurs des pics	140
	Limites de quantité	140
	Temps de rétention/migration absolu	141
	Temps de rétention/migration corrigés	143
	Pics de référence uniques	143
	Pics de référence multiples	144
	Qualificateurs des pics	145
	La corrélation de signal	146
	Vérification du qualificateur	146
	Calcul du rapport de qualification	147
	Le processus d'identification	148
	Trouver les pics de référence	148
	Trouver les pics ISTD	148
	Trouver les pics étalonnés restants	149
	Classification des pics non identifiés	149
7	Étalonnage	151
	Terminologie	152
	Tableau d'étalonnage	153
	Courbe d'étalonnage	154
	Echantillons inconnus	156

Types d'étalonnage	157
Etalonnage à un seul point	157
Etalonnage multipoints	158
Gammes d'étalonnages	160
Ajustements de la courbe d'étalonnage	160
Traitement de l'origine	161
Etalonnage de groupe	164
Addition des pics	165
Re-étalonnage	166
Qu'est-ce que le ré-étalonnage ?	166
Pourquoi ré-étalonner ?	166
Ré-étalonnage manuel	167
Ré-étalonnage avec addition des pics	167
Options de ré-étalonnage	167
Méthodes de ré-étalonnage	168
Ré-étalonnage des pics non identifiés	169
8 Automatisation	171
Qu'est-ce que l'automatisation ?	173
Qu'est-ce qu'une séquence ?	174
Paramètres de séquence	175
Tableau de séquence	176
Création des séquences	177
Utilisation de l'éditeur de table de séquence	177
Utilisation du bouton "Insert Vial Range"	177
Utilisation du bouton "Append Line"	177
Travailler avec des séquences	178
Echantillons prioritaires	178
Pour effectuer une séquence avec des échantillons de contrôle	178
Pour arrêter une séquence	178

Pour interrompre une séquence	178
Pour suspendre une séquence	179
Pour exécuter partiellement une séquence	179
Fichier journal de séquence	181
Que se passe-t-il lorsqu'une séquence est exécutée ?	182
Pour nommer des fichiers de données dans une séquence	183
Pour nommer des fichiers de données automatiques pendant une séquence	183
Pour entrer des noms de fichiers de données manuellement	184
Fonctionnement après séquence	186
Not Ready Timeout (CPL et EC seulement)	186
Wait Time (CPL et EC seulement)	186
Ré-étalonnage automatique	187
Pour spécifier des ré-étalonnages	188
Paramètres de ré-étalonnage dans le tableau de séquence	188
Types de séquences	191
Séquences d'étalonnage explicites	192
Séquences d'étalonnage cycliques à un seul point	193
Séquences d'étalonnage cycliques multipoints	194
Ordre d'analyse de Méthode A	196
Ordre d'analyse de Méthode B	197
Etalonnages explicites et cycliques réunis	198
Exemple	198
Ordre d'analyse SimpReg	199
Séquences d'étalonnage cyclique avec délimitation	200
Exemple	200
Fonctionnement de la séquence délimitée	202
Exemple	202

Séquences de ré-étalonnage cycliques avec plusieurs flacons contenant un étalon dilué dans les mêmes proportions 205

Séquence de ré-étalonnages cycliques avec utilisation de flacon d'étalonnage en essai circulaire "Round-Robin" 205

Ré-étalonnages cycliques, chaque étalonnage utilisant un flacon différent 207

Séquence délimitée utilisant des flacons différents pour ouvrir et fermer la délimitation 207

9 La revue des lots 209

Qu'est-ce que la revue d'un lot ? 210

La configuration d'un lot 211

Table d'un lot 211

Table des composés 212

Rapport de lot 212

Interface utilisateur 213

Les fonctions de revue 214

Etalonnage en revue des lots 214

Les rapports de la revue de lot 215

Historique des lots 215

10 Utilisation des rapports générés par la ChemStation Agilent 217

Qu'est-ce qu'un rapport ? 218

Rapports de résultats 219

Rapports non étalonnés 219

Rapports étalonnés 219

Rapport d'étalon externe 220

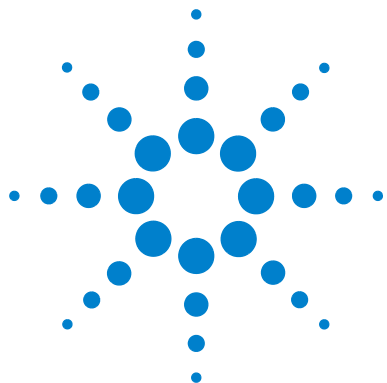
Rapport d'étalon interne 220

Rapport Control Charts 220

Résultats quantitatifs 221

Styles de rapports	223
Ajout d'un rapport personnalisé aux styles de rapports	225
Autres paramètres de style de rapport	226
Table de sommation des pics	226
Format de rapport pour les pics non étalonnés	226
Destination du rapport	227
Formats de fichiers du rapport	227
Rapports résumés de séquence	229
Généralités	229
Pour établir un rapport résumé de séquence	229
11 Evaluation de l'adéquation du système	233
Détermination du bruit	237
Calcul de bruit avec six fois l'écart type	237
Calcul de bruit par la formule de pic à pic	238
Calcul de bruit par la méthode ASTM	239
Calcul de rapport signal sur bruit	241
Dérive et variation à moyen terme	241
Calcul de la symétrie des pics	242
Formules et calculs de vérification de performance du système	244
Définitions générales	245
Volume mort	245
Temps de rétention du composant non retenu t_r (min)	245
Définitions des tests de performances	246
Moments statistiques	246
Moments statistiques, inclinaison et excès	247
Largeur de pic vraie W_x [min]	248
Facteur de capacité (USP), Rapport de capacité (ASTM) k'	248
Facteur de traîne USP (USP) t	248
Nombre de plateaux théoriques par colonne (USP, ASTM) n	249

Nombre de plateaux théoriques par mètre N [1/m]	250
Rétention relative (USP, ASTM), Sélectivité Alpha	251
Résolution (USP, ASTM) R	251
Définitions pour la reproductibilité	253
Moyenne de l'échantillon M	253
Echantillon Ecart type S	254
Coefficient de variation RSD[%] (USP)	254
Écart type de la moyenne S_M	254
Confiance CI	255
Analyse de régression	256
Coefficient de régression	257
Ecart type (S)	257
Accès aux nombres internes enregistrés en double précision	258
12 Vérification du système	261
Vérification du système	262
Vues de vérification et de diagnostic	265
Le registre GLPsave	266
Fonction de test du détecteur à barrette de diodes	268
Fonction Review DAD Test	268
Indice	271



1

Caractéristiques des ChemStations

Description générale	18
Modules d'instrument additionnels	19
Modules additionnels d'évaluation des données	20
Modules dédiés à l'évaluation de données	21
Matériel ChemStation	22
A propos du logiciel ChemStation	23
Système d'exploitation	23
Méthodes et séquences	23
Configuration du système	23
Modèle de données	24
Conventions de noms de fichiers	25
Interface utilisateur du logiciel	28
Acquisition des données	29
Analyse des données — Affichage	30
Analyse des données — Intégration	31
Possibilités d'intégration	31
Analyse des données — Quantification	33
Analyse des données — Rapport standard	33
Analyses des données — Rapport spécifique	34
Utilitaires et compatibilités	37
Personnalisation	38
Automatisation	39
Bonnes pratiques de laboratoire (BPL)	40
Contrôle des instruments	44
La mise en réseau	44
Documentation	45
La structure des répertoires ChemStation	47



Description générale

Les systèmes ChemStations pour CPG, CPL, CPL/MSD, et A/N sont des systèmes de contrôle d'instrument, d'acquisition des données et d'évaluation de données pour :

- Chromatographes en phase gazeuse Agilent 6890N, 6890Plus et 6890A,
- les appareils de chromatographie en phase gazeuse Agilent 6850 série II et Agilent 6890,
- Chromatographe en phase gazeuse série 5890 II
- les systèmes CPL et les modules Série Agilent 1100,
- le couplage CPL/MSD Série Agilent 1100,
- les chromatographes en phase liquide Série 1090,
- Détecteurs 1046 FLD et 1049 ECD
- Système d'électrophorèse capillaire Agilent (EC)
- Système Agilent EC/SM et
- les interfaces Analogiques/Numériques bi-voie Agilent 35900E.

Le logiciel peut fonctionner sur des PC compatibles IBM dans les environnements d'exploitation Microsoft® Windows 2000 et Microsoft® Windows XP Professionnel.

Le logiciel est vendu sous la forme d'une ChemStation de base à un seul instrument dans cinq versions. Ces cinq versions possèdent chacune les fonctions d'acquisition des données, de contrôle d'instrument, d'analyse de données (intégration, quantification et rapport), d'automatisation et de personnalisation pour un instrument d'analyse. Un instrument est défini comme fonctionnant sur une base de temps unique, mais il peut collecter simultanément des données provenant de différents détecteurs. Les cinq versions sont les suivantes :

- la ChemStation mono-instrument pour les systèmes de chromatographie en phase gazeuse (CPG), référence produit G2070BA,
- la ChemStation mono-instrument pour les systèmes de chromatographie en phase liquide (CPL), référence produit G2170BA,

- la ChemStation mono-instrument pour les systèmes d'électrophorèse capillaire (EC), référence produit G1601A, et
- la ChemStation mono-instrument pour les systèmes de couplage de chromatographie en phase liquide/détecteur de masse (CPL/MSD), référence produit G2710BA, et
- la ChemStation analogique/numérique (A/N) mono-instrument pour l'acquisition des données analogiques avec contrôle d'événement externe, référence produit G2072BA.

Les possibilités de contrôle d'instrument du logiciel de la ChemStation peuvent être élargies par l'acquisition de modules instruments supplémentaires d'acquisition de données et de contrôle pour permettre des configurations à plusieurs instruments, et à techniques mixtes.

Modules d'instrument additionnels

Les modules d'instrument additionnels sont :

- le module de contrôle d'instrument et d'acquisition des données CPG supplémentaire, référence produit G2071BA,
- le module de contrôle d'instrument et d'acquisition des données CPL supplémentaire, référence produit G2171BA,
- le module additionnel de contrôle d'instrument et d'acquisition de données CPL référence produit G2172BA,
- le module de contrôle d'instrument CPL/MSD, d'acquisition de données, et le module de mise à niveau pour l'évaluation de données, référence produit G2715BA, et
- le module d'acquisition des données analogiques supplémentaire, référence produit G2073BA.

Modules additionnels d'évaluation des données

Les possibilités de traitement de données des ChemStations peuvent aussi être étendues par l'acquisition de modules additionnels de traitement de données pour des applications spécialisées :

- un module additionnel d'évaluation spectrale détecteur à barrette de diodes (DAD), référence produit G2180BA,
- un module additionnel de base de données d'organisation et de résultats d'échantillons "ChemStore", référence produit G2181BA, et
- un module d'évaluation de données de déconvolution et de bioanalyses CPL/MSD, référence produit G2720BA (ne peut être utilisé qu'avec une ChemStation de couplage CPL/MSD).

Il est possible de configurer jusqu'à quatre instruments chromatographiques sur chaque ChemStation. Si des instruments équipés de détecteurs spectroscopiques (détecteurs à barrette de diodes pour chromatographie en phase liquide ou électrophorèse capillaire) sont configurés, le nombre de détecteurs à barrette de diodes supportés sur une ChemStation est limité à deux et le nombre d'instruments supportés est limité à trois. Lorsque la ChemStation du couplage CPL/MSD est utilisée pour contrôler le module CPL/MSD de la série Agilent 1100 (éventuellement un CPL de la Série Agilent 1100 ou un CPL 1090 Série II), le PC ne peut gérer aucun autre instrument.

Modules dédiés à l'évaluation de données

Il existe également trois produits dédiés à l'évaluation de données sur lesquels on peut ne pas configurer d'instruments. Ils sont destinés à l'évaluation de données dans un environnement de bureau :

- la ChemStation destinée à l'évaluation de données, référence produit G2090BA, a les mêmes capacités d'évaluation de données que les ChemStations de base,
- la ChemStation destinée à l'évaluation de données CPL 3D, référence produit G2190BA, dotée des capacités d'évaluation de données de la ChemStation et d'évaluation des données spectrales du détecteur à barrette de diodes, et
- la ChemStation destinée à l'évaluation des données du couplage CPL/MSD, référence produit G2730BA, apporte à la fois l'évaluation des données du détecteur à barrette de diodes, l'évaluation des données de spectres de masse, et les fonctionnalités d'évaluation de données de la ChemStation de base.

Matériel ChemStation

Le matériel ChemStation est décrit de manière détaillée dans le chapitre
Comment installer votre ChemStation.

A propos du logiciel ChemStation

Système d'exploitation

La ChemStation nécessite le système d'exploitation Microsoft Windows 2000 Professionnel, avec Service Pack 4, ou Windows XP Professionnel SP2.

La fonction tableaux de la ChemStation est supportée par MicroSoft Excel.

Méthodes et séquences

La méthode analytique décrit entièrement la façon dont s'effectue une séparation particulière. Elle contient tous les paramètres pour le contrôle d'instrument, l'acquisition et l'évaluation de données, y compris l'intégration, la quantification et le rapport. Le système peut être préparé de manière à acquérir par différentes méthodes, des données provenant de plusieurs échantillons. Le fichier contrôlant ce type d'opération est appelé une séquence et il contient les informations individuelles d'échantillon, les références aux méthodes appropriées et les spécifications de ré-étalonnage automatique. Pour des informations complémentaires sur les méthodes et les séquences, voir le [Chapitre 8](#), "Automatisation" et consulter l'aide en ligne du système.

Configuration du système

La configuration du système d'instrument s'effectue à l'aide du programme Editeur de configuration. Il vous permet de spécifier la nature de vos instruments, leurs adresses GPIB ou LAN, les répertoires pour vos données, les séquences et méthodes ainsi que les couleurs des écrans du logiciel de ChemStation. Pour plus d'informations, référez-vous aux manuels des modules supplémentaires ChemStation.

Modèle de données

Le logiciel ChemStation est conçu autour d'un modèle de données basé sur une structure de mémoire appelée registre. Les registres sont des structures polyvalentes capables de contenir des données analytiques, à la fois des informations à deux dimensions (par exemple, temps/intensité) et des données à trois dimensions (par exemple temps/intensité/longueur d'onde).

La ChemStation fournit des commandes et des fonctions permettant de construire, d'étendre, d'extraire et, si cela ne modifie pas les données primaires, de modifier des registres. Pour tout complément d'information, référez-vous au *Guide de macro programmation* disponible dans l'aide en ligne.

Conventions de noms de fichiers

Conventions de noms

Les règles ci-dessous permettent à ChemStation de créer et de traiter des noms valides de fichiers et de répertoires :

Les caractères ci-dessous ne sont pas autorisés dans les noms de fichiers ou de répertoires :

- < > : " / \ | @ % * ? etc

L'utilisation de ces caractères dans le dossier d'installation empêche le démarrage de la copie de retraitement et l'utilisation du caractère % dans le dossier d'installation empêche le bon fonctionnement de certains raccourcis "Agilent Chemstation B.01.0x".

Les règles suivantes s'appliquent en plus

Tableau 1 Caractères restreints

Paramètre ChemStation	Caractère
Noms de fichiers de méthode :	i% et . (point décimal) ne sont pas autorisés
Noms de fichiers de données (préfixe/compteur) :	les espaces ne sont pas autorisés
Sous-répertoires de données et sous-répertoires de séquences :	[] + = ; , . (point décimal) ne sont pas autorisés

Les noms de périphériques réservés ci-dessous ne peuvent pas être utilisés comme nom de fichier :

- CON, PRN, AUX, NUL
- COMx (où x est un nombre entre 1 et 9)
- LPT1x (où x est un nombre entre 1 et 9)

Evitez aussi d'utiliser ces noms suivis d'une extension (par exemple Nul.txt).

REMARQUE

Les systèmes d'exploitation anglais sont utilisés pour tester les conventions de noms. Agilent ne peut rien affirmer concernant la prise en charge des systèmes d'exploitation autres qu'anglais et de leurs caractères spéciaux.

Longueur maximale des noms de fichiers et de sous-répertoires ChemStation

Les spécifications de noms de fichiers et de sous-répertoires pour ChemStation Agilent sont mentionnées ci-dessous :

Tableau 2 Longueur maximale des noms de fichiers et de sous-répertoires ChemStation

Fichier/sous-répertoire/chemin	Longueur de saisie maximale Longueur	Ajout Auto	Exemple
Nom de fichier	38	. .D	Demodad.d
Nom de fichier utilisant un préfixe/compteur	15	. .D	longname000001.d
Méthode	40	. M	def_lc.m
Séquence		. S	def_lc.s
Hyperséquence		. HYP	def_lc.hyp
Bibliothèques		. UVL	demodad.uvl
Modèles de rapports personnalisés		. FRP	areapct.frp
Sous-répertoire de fichiers de données	40		demo (dans les informations d'exemple)
Sous-répertoire de séquences de données	40		demo (dans les paramètres de séquence)
Chemin de données	100	100	c:\chem32\1\data
Chemin de méthode			c:\chem32\1\methods
Chemin de séquence			c:\chem32\1\sequence
Chemin d'hyperséquence			c:\chem32\1\hyper
Chemin de bibliothèque			c:\chem32\speclib
Rapport personnalisé			c:\chem32\repstyle
Chemin de modèle			

REMARQUE

Les barres d'outils qui affichent les noms de fichiers de données/séquences/méthodes ont été redimensionnées pour afficher jusqu'à 18 caractères.

Tous les journaux ChemStation affichent les messages système sous forme développée et les chaînes d'informations sont imprimées sur plusieurs lignes. Certains rapports, par exemple les rapports de séquences, peuvent tronquer les noms de fichiers pour faire tenir toutes les informations nécessaires sur le modèle de rapport.

Interface utilisateur du logiciel

L'interface utilisateur de la ChemStation est constituée de vues groupant les fonctionnalités logicielles d'après des tâches analytiques types. Toutes les configurations du logiciel comportent les trois vues standard suivantes :

- la vue Contrôle de méthode et d'analyse, pour contrôler et acquérir des données à partir de l'instrument,
- la vue Analyse de données, pour l'analyse et la ré-évaluation de données qui ont été acquises,
- la vue Concepteur de rapports, pour concevoir des présentations de rapports spécifiques.

Vous accéderez à des vues supplémentaires si des modules d'évaluation de données supplémentaires ont été commandés, ou dans le cas de certaines configurations d'instruments qui supportent des diagnostics d'instruments et des procédures de vérification. Si vous le souhaitez, il est possible d'installer la vue ChemStation Companion, elle permet d'analyser des échantillons à partir d'une table préconfigurée facile à utiliser.

Chaque vue est constituée d'un ensemble d'éléments standard comprenant des menus et des barres d'outils. La barre d'outils standard permet d'accéder rapidement aux informations de spécifications courantes du système telles que les méthodes et les séquences. La vue Contrôle de méthode et d'analyse comporte en plus une barre d'état du système, une zone d'informations d'échantillons, elle peut être configurée pour des analyses simples ou automatisées, et un schéma de diagramme d'interface d'instruments pour des configurations CPG, CE et CPL. Le schéma de diagramme d'interface d'instruments utilise des points chauds (hot spots) pour donner un accès rapide aux paramètres de l'instrument et un panorama graphique animé de l'état de chaque analyse, pendant son déroulement. Pour économiser de la mémoire et d'autres ressources Windows, vous pouvez désactiver le schéma de diagramme d'instruments s'il n'est pas nécessaire.

La vue Analyse de données étend la barre d'outils standard aux modes d'analyse de données spécifiques comprenant l'intégration, l'étalonnage, le rapport, l'annotation, la comparaison de signaux et des modes spécialisés supplémentaires si les modules correspondants sont installés. Chacun de ces modes d'analyse de données séparé est supporté par un jeu d'outils spécifique au mode.

La vue Concepteur de rapports permet à l'utilisateur de définir graphiquement la disposition d'un style de rapport spécifique, par la méthode des objets graphiques. Elle utilise aussi un ensemble de barres d'outils spécifique à cette tâche.

Acquisition des données

Le statut de l'instrument est supervisé et mis à jour en permanence sur l'affichage, parallèlement au temps d'exécution écoulé de l'analyse, et ce aussi bien quand le logiciel est visible dans une fenêtre que lorsqu'il est représenté par une icône. Les transactions survenant pendant l'analyse, y compris les erreurs éventuelles et les conditions de l'instrument au début et à la fin de l'analyse, sont enregistrées dans le journal du système, dont un extrait est stocké avec chaque fichier de données.

Les conditions de l'instrument, telles que le débit, la température, la pression et la composition du solvant pour les chromatographes en phase liquide, peuvent être enregistrées et stockées avec chaque fichier de données. Ces paramètres peuvent être affichés et tracés pour témoigner de la qualité de chaque analyse. La nature exacte des paramètres enregistrés dépend d'une part de la technique, et d'autre part des possibilités de l'instrument configuré.

Une ou plusieurs fenêtres d'affichage peuvent être utilisées pour superviser en temps réel les données acquises par l'instrument. Les données sont affichées en unités de mesure réelles telles que mDO, Volts, degrés ou bars. Chacune des fenêtres peut montrer, en superposition, plusieurs signaux chromatographiques/électrophérogaphique ou paramètres d'instrument, tels que la pression. Les paramètres par défaut de l'affichage peuvent être ajustés et sont mémorisés par le système, de telle sorte que les utilisateurs puissent définir leurs paramètres préférés comme valeurs par défaut de l'instrument. La fenêtre possède une fonction zoom et il est possible d'utiliser le curseur pour afficher à tout moment, la réponse à un signal spécifique.

Pendant une analyse, la fonctionnalité complète de la ChemStation peut être utilisée au moyen de la copie "offline".

Une commande instantanée (snapshot) est disponible pour les utilisateurs qui souhaitent commencer à traiter des données avant la fin de l'analyse.

La disposition des fenêtres d'informations sur les signaux et les états, y compris les composants du schéma de diagramme d'interface, est enregistrée automatiquement.

Pour des informations complémentaires sur l'acquisition des données, voir le [Chapitre 3](#), "Acquisition des données" et consulter l'aide en ligne du système.

Analyse des données — Affichage

La vue Analyse des données élargit le champ d'action de la barre d'outils standard avec des fonctions d'analyse des données groupées par tâche, y compris l'intégration, l'étalonnage, le rapport, l'annotation et les outils de comparaison de signaux. Les principales opérations graphiques suivantes sont possibles :

- affichages mono-signal ou multi-signal sélectionnables au moment du chargement du chromatogramme/électrophérogramme,
- superpositions (overlays) de chromatogrammes/électrophérogramme, provenant de différents échantillons,
- soustraction d'un chromatogramme/électrophérogramme d'un autre,
- alignements vertical et horizontal graphiques des signaux pour aider à la comparaison visuelle,
- inversion ou duplication miroir des signaux pour aider à la comparaison visuelle,
- zoom et fonctions de défilement graphique,
- ajustement des attributs d'affichage, y compris la sélection des graduations, des lignes de base, des axes, des temps de rétention/migration et des noms de composés (l'utilisateur peut aussi sélectionner la position pour le RT et les libellés de composés, ajuster la taille et l'orientation de l'affichage, sélectionner l'affichage en mode superposition ou séparé, et sélectionner les facteurs d'échelle),

- l'affichage du chromatogramme/électrophérogramme peut inclure des superpositions graphiques des paramètres de l'instrument, selon la possibilité de l'instrument configuré,
- des annotations définies par l'utilisateur peuvent être ajoutées interactivement à l'affichage, avec sélection de police, taille, rotation du texte et couleur (une fois définies, les annotations peuvent être déplacées, modifiées ou supprimées),
- copie de l'affichage sur le presse-papiers Windows en format métafichier et bitmap,
- Une fonction *pick mode (lecture directe)* pour afficher les valeurs des points de données individuels en unités du détecteur, et
- export des points numérisés de temps/intensité vers le presse-papiers Windows.

Analyse des données — Intégration

L'algorithme d'intégration de la ChemStation est la deuxième version d'une nouvelle génération qui vise à plus de robustesse, de fiabilité et de simplicité d'utilisation.

Possibilités d'intégration

REMARQUE

Presque tous les écrans prennent en compte l'autorisation des noms de fichiers longs. Les barres d'outils qui affichent les noms de fichiers de données/séquences/méthodes ont été redimensionnées pour afficher jusqu'à 18 caractères.

Les algorithmes d'intégration comprennent les possibilités principales suivantes :

- une possibilité d'auto-intégration utilisée pour établir les paramètres d'intégration initiaux,
- la capacité de définir des tables d'événements d'intégration individuelles pour chaque signal chromatographique/électrophérogaphique si l'on utilise des signaux multiples ou plus d'un détecteur,

- la définition interactive des événements d'intégration permettant à l'utilisateur de sélectionner graphiquement des temps d'événement,
- l'intégration graphique manuelle ou «élastique» de chromatogrammes/électrophérogramme nécessitant une interprétation humaine (ces événements peuvent aussi être enregistrés dans la méthode et utilisés dans le cadre de l'exploitation automatisée),
- l'affichage et l'impression des résultats d'intégration, et
- la capacité d'intégrer au moins 1000 pics par chromatogramme/électrophérogramme.
- définitions de paramètres d'intégration permettant de régler ou de modifier les paramètres de l'intégrateur de base pour le rejet d'aire, le rejet de hauteur, la largeur de pic et la sensibilité de pente,
- des paramètres de contrôle de la ligne de base, tels que forcer la ligne de base, maintenir la ligne de base, ligne de base sur toutes les vallées, ligne de base à la vallée suivante, première ligne de base vers l'arrière à partir de la fin du pic courant,
- contrôle de la sommation d'aires,
- reconnaissance de pic négatif,
- traitement de l'intégration tangentielle, y compris des commandes de définition de pic de solvant, et
- possibilité de définir des tables d'événements de calculs d'intégration tangentielle sur front ou traînée individuellement pour *tous* les signaux chromatographiques/électrophérogramme,
- possibilité de paramètres de correction de ligne de base (sans relation au signal),
- des commandes de contrôle de l'intégrateur définissant des gammes de temps de rétention/migration pour l'exploitation de l'intégrateur.
- allocation de l'épaulement de pic par l'utilisation d'une dérivée seconde ou degré de calculs de courbure,
- échantillonnage amélioré de points de données non équidistants pour de meilleures performances avec des fichiers de données CPL DAD reconstruits à partir des spectres DAD, et

L'algorithme d'intégration est décrit plus en détail dans le [Chapitre 4](#), "Intégration".

Analyse des données — Quantification

Le mode d'étalonnage de la vue Analyse des données de la ChemStation permet d'afficher simultanément :

- le ou les signaux étalonnés avec l'indication de la fenêtre des temps de rétention/migration du composé en cours,
- le tableau d'étalonnage dont l'affichage peut être configuré à partir d'une sélection complète de paramètres d'étalonnage, et
- la courbe d'étalonnage pour le composé en cours d'étalonnage.

Toutes les fenêtres du mode d'étalonnage sont liées de telle sorte que les changements dans l'une d'elles se répercutent sur toutes les autres. Ce mode permet la sélection graphique et les modifications des données d'étalonnage.

La quantification est basée sur des %, % normalisé, étalon externe, % d'étalon externe, étalon interne, et % d'étalon interne calculés sur l'aire ou la hauteur du pic. Les étalonnages peuvent être multipoints et incluent plusieurs définitions d'étalons internes. Les historiques d'étalonnage sont automatiquement enregistrés et peuvent être utilisés pour pondérer les calculs de ré-étalonnage.

Pour des informations complémentaires sur l'étalonnage et la quantification, voir le [Chapitre 7](#), "Etalonnage".

Analyse des données — Rapport standard

Il est possible de sélectionner sur l'écran de spécification de rapport un jeu standard de styles de rapport définissable par l'utilisateur pour les rapports d'échantillon. Chaque type de rapport standard contient des groupes d'informations standard et une suite de groupes d'informations facultatives.

Pour plus d'informations sur les styles de rapport, voir le [Chapitre 10](#), "Utilisation des rapports générés par la ChemStation Agilent".

Analyses des données — Rapport spécifique

La ChemStation peut fournir un jeu de rapports plus spécialisés pour les applications qui le nécessitent. Ce sont : des statistiques sur la qualité de séparation, des rapports incluant des analyses de tendance entre des échantillons, et des dessins de rapports définis par l'utilisateur.

Rapports d'adéquation du système

Les rapports d'adéquation du système permettent aux utilisateurs de fournir des paramètres de performances du système pour des analyses individuelles. Ces rapports existent en trois variantes ou styles.

Le style **Standard Performance** contient des paramètres pour les méthodes non étalonnées, et notamment :

- temps de rétention/migration,
- le facteur de capacité (k'),
- l'aire des pics,
- la hauteur des pics,
- la symétrie,
- largeur de pic réelle à mi-hauteur,
- efficacité en nombre de plateaux théoriques,
- résolution, et
- sélectivité.

Pour des méthodes étalonnées, le nom et la quantité du composé remplacent les colonnes aire du pic, hauteur et sélectivité.

L'en-tête du rapport inclut l'en-tête et le bas de page standard, le bloc d'informations d'échantillon, les paramètres de colonnes analytiques et, facultativement, un tracé du chromatogramme/électrophérogramme.

Le style de rapport **Performance and Noise** ajoute aux données provenant du style de rapport Performance, une évaluation du bruit du signal, dans un maximum de sept gammes d'évaluation définies par l'utilisateur. Les paramètres de bruit sont rapportés sous la forme de rapports signal/bruit pour chaque pic ou composé étalonné et d'un tableau de bruit pour chaque signal. Chaque tableau de bruit inclut le bruit calculé par six fois l'écart type, les méthodes pic à pic et ASTM, ainsi que la variation à moyen terme et la dérive.

Le style de rapport **Extended Performance** ajoute des tracés de chaque pic individuel montrant les temps de début et de fin du pic, la demi-largeur et la ligne de base. Ce style contient les paramètres suivants en plus de ceux des rapports Performance standard :

- aire, hauteur et quantité,
- inclinaison,
- excès,
- facteur de traîne usp,
- intervalle de temps entre les points de données et nombre de points de données sur le pic,
- moments statistiques (M0 à M4),
- largeur du pic à mi-hauteur calculée : réelle, cinq sigma, tangente et traîne, et
- plateau/colonne et plateaux/mètre calculés par la largeur du pic à mi-hauteur, par les méthodes cinq sigma, tangente et statistique.

Les utilisateurs peuvent définir leurs propres plages d'évaluation de bruit et les limites acceptables pour ces critères de performances. Les valeurs qui se situent hors des limites acceptables utilisateurs sont indiquées sur le rapport.

Pour des informations complémentaires sur les calculs d'adéquation du système, reportez-vous au [Chapitre 11](#), "Evaluation de l'adéquation du système".

Rapports résumés de séquences

Les rapports résumés de séquences sont produits à la fin d'une suite d'analyses automatisées. Leur gamme d'application va d'un bref résumé d'échantillons analysés à une analyse de répétabilité ou de tendance graphique détaillée des paramètres sélectionnables par l'utilisateur, entre différents échantillons analysés par la même méthode. Les rapports sont construits à l'aide de neuf catégories d'informations facultatives :

- une page d'en-tête qui peut être définie par l'utilisateur,
- la configuration d'instrument, y compris les numéros de versions et les spécifications de colonnes analytiques ou capillaires pour les systèmes CPL ou EC ,
- la liste des échantillons planifiés pour l'analyse ; la séquence,

- le journal imprimé indiquant ce qui a été analysé et documentant les étapes d'acquisition et de traitement des données, ainsi que les événements inattendus éventuels,
- une sortie imprimée des méthodes analytiques,
- des rapports d'échantillons individuels,
- des statistiques sur les étalons, et
- des statistiques sur les échantillons inconnus,
- une page de résumé qui peut être un résumé par échantillon, une ligne d'information par analyse, ou un résumé par composé avec un bref tableau résumé du composé en plus du résumé d'échantillon.

Pour plus d'informations sur les rapports résumés de séquences, voir le système en ligne et "[Rapports résumés de séquence](#)" page 229.

Rapports personnalisés

La ChemStation possède une vue de conception de rapports personnalisés pour les utilisateurs qui souhaitent définir le contenu exact de leurs propres rapports. L'utilisateur définit graphiquement le contenu d'un cadre pouvant inclure des informations générales d'échantillon, ainsi que des informations de résultat d'intégration de signaux et d'analyse quantitative. L'utilisateur peut définir des éléments individuels tels que du texte, des tableaux et des graphiques, les organiser en sections et ajuster graphiquement la position, la taille et l'orientation relative de chaque élément défini. Chacune des sections peut être ajoutée, supprimée, réagencée et imbriquée.

L'utilisateur peut définir des en-têtes et des bas de page qui apparaîtront sur chaque page, des tampons horodateurs pour la numérotation des rapports et des pages dans le format *page x de y*. L'information incluse dans le rapport peut être tout paramètre de la ChemStation ou défini par l'utilisateur.

Une fois élaboré, le rapport peut être associé à une méthode particulière : il devient alors le format de rapport par défaut pour ce type particulier d'analyse.

Les rapports personnalisés peuvent être visualisés à l'écran, imprimés et lus dans un fichier. Les rapports consultables à l'écran comprennent des graphiques.

Pour plus d'informations sur la mise en page des rapports, voir le système d'aide en ligne.

Rapports tableaux

Le logiciel ChemStation inclut une fonction de tableau de contrôle. Une fois la fonction tableaux du logiciel ChemStation installée et sélectionnée, l'utilisateur peut rechercher automatiquement un paramètre sélectionné d'un composé chaque fois qu'une méthode est exécutée. Ces paramètres sont notamment : la concentration, le facteur de réponse, le temps de rétention/migration et l'aire.

Pour plus d'informations sur ces rapports personnalisés et les tableaux, consulter l'aide en ligne du système.

Utilitaires et compatibilités

Généralités

La ChemStation peut importer et exporter des fichiers de données dans le format ANDI (Analytical Data Interchange) et dans le format chromatographique de la Analytical Instrument Association (AIA), version 1.0, copyright 1992. L'importation des données est supportée au niveau Un de conformité (informations d'échantillons et données de signaux) et l'exportation de données, au niveau Deux de conformité (informations d'échantillons, données de signaux et résultats d'intégration).

La ChemStation inclut des commandes et des fonctions compatibles avec le standard DDE (Dynamic Data Exchange) de la plate-forme Microsoft Windows en tant que client DDE et serveur DDE. Les commandes incluses dans le jeu permettent d'établir et de terminer des connexions, de transférer des informations dans les deux directions et d'exécuter des fonctions à distance.

Personnalisation

Le puissant jeu de commandes permet de personnaliser la ChemStation. Il est possible de grouper ces commandes ; un tel groupe constitue une macro permettant d'exécuter automatiquement une fonction donnée. Les utilisateurs qui écrivent des macros peuvent définir leurs propres variables, inclure des structures conditionnelles ou en boucle, effectuer des entrées/sorties physiques, y compris le traitement des fichiers et interaction utilisateur, imbriquer leurs macros, et planifier et échanger des données avec d'autres applications MS-DOS ou Microsoft Windows.

Pour de plus amples informations sur la personnalisation, référez-vous au *Guide de Macro Programmation* disponible dans l'aide en ligne.

Automatisation

La ChemStation peut exécuter des séquences multiméthodes.

Il est possible de définir le jeu de paramètres de séquence, de manière à utiliser des fichiers générés automatiquement, ou des fichiers numérotés séquentiellement avec un préfixe de quinze caractères maximum défini par l'utilisateur. Ce dernier peut choisir d'exécuter des analyses complètes ou des séquences limitées au retraitement des données, et il peut aussi sélectionner une fermeture spécifique parmi une série de commandes de fermeture ou définir une macro de fermeture qui s'exécute lorsque la séquence se termine par suite d'une erreur ou au terme de toutes les analyses.

La table de séquence, ou liste d'analyses à effectuer, est construite dans une interface utilisateur comparable à celle d'un tableur permettant de spécifier les numéros de flacons et noms d'échantillons, les méthodes d'analyse, des paramètres de quantification d'échantillon, notamment quantité d'échantillon, un facteur de multiplication et de dilution, une spécification d'étalonnage, des paramètres d'échange de données LIMSID et le nombre de répétition des injections. Selon les instruments et modules configurés, d'autres champs peuvent être accessibles, par exemple si un système Agilent CPL 1100 comporte un collecteur de fractions, la colonne " Fract. Start (début de fraction) " apparaît dans la table de séquence. La présentation de la table de séquence est modifiable par l'utilisateur. L'utilisateur peut passer d'une cellule individuelle à l'autre du tableau et copier, couper ou coller des cellules, des rangées, des suites de rangées, afin de construire des séquences de manière efficace et rapide.

Les échantillons peuvent être identifiés dans le tableau de séquence comme inconnus, types d'échantillons d'étalonnage ou de contrôle. Le type d'échantillon détermine tout traitement d'évaluation spécial des données de l'échantillon :

- les échantillons inconnus sont évalués et rapportés d'après la spécification de méthode,
- les échantillons d'étalonnage servent à ré-étalonner le composant de quantification des méthodes comme décrit ci-après, et
- les échantillons de contrôle sont évalués par rapport aux limites pour chaque composant défini dans la méthode. Si les résultats se situent hors de la gamme de paramètres spécifiée, l'exécution de la séquence est arrêtée.

Il est possible de définir des ré-étalonnages simples, cycliques et délimités. Un ré-étalonnage est simple lorsqu'il se produit chaque fois qu'un échantillon d'étalonnage est défini dans la séquence. Les ré-étalonnages cycliques se produisent à des intervalles définis pendant les analyses d'une suite d'inconnues. En utilisant la délimitation pour une série d'échantillons de composés inconnus, deux jeux d'étalonnage sont analysés. Les rapports quantitatifs des échantillons de composés inconnus sont alors calculés avec un tableau d'étalonnage moyen intermédiaire entre les deux jeux.

La fonctionnalité de séquence partielle permet aux utilisateurs de voir l'ordre d'exécution de la séquence, et aussi de sélectionner des entrées d'échantillon individuelles à ré-exécuter ou à ré-évaluer. Lorsqu'ils ré-évaluent des données déjà acquises, les utilisateurs peuvent spécifier si le retraitement utilise les données de quantification d'échantillon originales ou de nouvelles données entrées dans le tableau d'échantillon de la séquence.

Les séquences peuvent être suspendues pour exécuter des échantillons prioritaires ne nécessitant qu'une seule injection par une autre méthode, puis relancées sans perturber l'automatisation. Il est possible d'ajouter des échantillons au tableau de séquence pendant que la séquence s'exécute.

Les tableaux de séquence et de séquence partielle peuvent tous deux être imprimés.

Pour des informations complémentaires sur les séquences, voir le [Chapitre 8](#), "Automatisation" et consulter l'aide en ligne du système.

Bonnes pratiques de laboratoire (BPL)

La ChemStation est conforme aux normes de conception et de développement internationales et possède des fonctions qui aident les utilisateurs à travailler dans un environnement régulé. Ces fonctions se situent dans le domaine de la spécification de méthode complète et de la vérification de l'adéquation des méthodes à l'usage prévu, de la vérification du fonctionnement du système et de la garantie de la traçabilité, de l'originalité et de la qualité des données.

Processus de développement

Le certificat de validation joint à tout envoi de logiciel documente le développement ainsi que les étapes de test du cycle de développement. La procédure de développement est enregistrée conformément aux normes de qualité ISO 9001. Elle est documentée avec les protocoles de revalidation sur site dans le *classeur de validation Agilent ChemStation pour CPL*.

Spécification et utilisation des méthodes

- Méthodes globales – la spécification d'instrument et d'analyse de données complète est stockée en un endroit. Les méthodes incluent des spécifications de gammes de composés individuels permettant de vérifier que les résultats de quantification ne se situent pas hors de la gamme étalonnée.
- Le journal d'historique des changements de méthode permet aux utilisateurs d'une méthode validée d'enregistrer automatiquement comment et quand une méthode a été changée. Les utilisateurs peuvent ajouter un motif en commentaire au journal d'historique des changements. Ce dernier est automatiquement stocké avec la méthode dans un format binaire. Pour empêcher tout accès non autorisé aux enregistrements, il est protégé par le schéma d'accès utilisateur décrit ci-après. Ce journal peut être visualisé et imprimé.
- Il est possible d'attribuer des limites, composé par composé, dans chaque méthode, pour un certain nombre de paramètres de performances chromatographiques/électrophérogaphique et de performances système, comme décrit dans la section sur la quantification d'analyse des données. Les résultats qui excèdent ces plages de paramètres servent à contrôler l'exécution des séquences automatisées comme décrit dans la section Automatisation. Ils figurent sur le rapport d'analyse approprié.
- Les rapports de performances ou d'adéquation du système (voir la section sur les rapports ci-dessus) fournissent une analyse détaillée de la qualité de séparation.

La ChemStation peut être configurée pour un accès limité à deux niveaux : un niveau opérateur et un niveau administrateur. Le niveau administrateur peut être protégé par mot de passe et permet d'accéder à l'ensemble des fonctionnalités de la ChemStation. Le niveau opérateur limite l'utilisateur à une fonctionnalité clé et à l'exécution des méthodes analytiques définies. Ce niveau est destiné à des laboratoires de routine, il empêche les utilisateurs de modifier et de créer de nouvelles méthodes.

Robustesse des méthodes

Rapports résumés de séquences (voir “[Analyses des données – Rapport spécifique](#)” page 34) permet de tester la robustesse des méthodes. Les rapports au format étendu pour des critères sélectionnés par l'utilisateur sont présentés sous la forme de graphes de tendances et permettent de déterminer les limites de fonctionnement réalistes. Ces limites peuvent ensuite être intégrées dans la méthode pour garantir, par l'analyse d'échantillons de contrôle, que la méthode fonctionne dans les limites des spécifications.

Fonctionnement du système

Le kit de vérification de la ChemStation, qui fait partie du logiciel standard, vérifie automatiquement l'installation et le fonctionnement corrects des éléments d'évaluation de données du logiciel, en comparant les résultats du test à des valeurs connues pré-enregistrées. Le kit permet aux utilisateurs de définir leurs propres fichiers de données et de méthodes pour conduire le test.

Traçabilité, originalité et qualité des données

Le journal d'exécution fournit un journal des transactions de tout le système. Il enregistre également tout événement inhabituel (tels que des erreurs ou des changements effectués pendant une analyse) ainsi que les conditions de l'instrument avant et après chaque analyse. Une copie de l'extrait pertinent du journal est enregistrée avec chaque fichier de données.

Les conditions réelles de l'instrument, telles que la pression, le débit et la température, utilisées pendant chaque analyse sont également enregistrées si l'instrument configuré le permet. Ces données peuvent ensuite être affichées graphiquement avec le chromatogramme/électrophérogramme, pour montrer les conditions réelles de l'instrument pendant cette analyse particulière ; elles peuvent aussi être incluses dans le rapport.

Les méthodes sauvegardées avec le fichier de données enregistrent la méthode utilisée au moment de l'analyse et permettent la reconstruction complète des données rapportées ultérieurement. Au terme de toutes les étapes analytiques, la méthode est enregistrée.

Tous les rapports comportent des tampons horodateurs et une numérotation de page particulière (style de pagination : *page x of y*). L'utilisateur peut choisir le niveau de détail de chaque rapport, allant de rapports résumés simples jusqu'à des détails complets sur le système (voir la section de rapport ci-dessus).

Les fichiers d'enregistrement BPL Save, spécifiés dans le cadre de la configuration de la méthode, enregistrent toutes les données d'origine, y compris les informations d'échantillon, la méthode d'analyse des données, les signaux chromatographiques/électrophérogaphique, les conditions d'instrument, les résultats d'intégration et de quantification, les données de rapport et le journal d'exécution, dans un fichier binaire protégé par un total de contrôle. C'est un format binaire non modifiable qui garantit l'originalité des résultats. Ce fichier inclut un schéma de version qui indique si des données ont été retraitées.

Les types d'échantillons de contrôle peuvent être définis dans le tableau de séquence et utilisés pour comparer automatiquement les performances de l'instrument par rapport aux résultats de l'échantillon de contrôle de qualité, quand l'instrument fonctionne sans surveillance. Les résultats qui se situent hors de la gamme acceptable spécifiée par l'utilisateur provoqueront l'arrêt de l'exécution automatique de l'instrument.

Contrôle des instruments

Il est possible d'étendre la capacité des ChemStations, en matière de contrôle des instruments, par l'achat de modules d'instruments supplémentaires, pour permettre des configurations comportant plusieurs instruments et des techniques mixtes. Pour plus de détails à ce sujet, voir le(s) manuel(s) fourni(s) avec les modules ChemStation supplémentaires.

La mise en réseau

Le logiciel ChemStation a été testé avec, et est supporté par les produits logiciels de réseau LanManager, Microsoft Windows 2000 et Microsoft Windows XP Professionnel basés sur les spécifications IEEE 802.3 CSMA/CD. Il devrait être compatible avec tout logiciel de réseau lui-même compatible avec les pratiques de programmation recommandées des environnements d'exploitation Microsoft Windows.

Ces produits permettent à la ChemStation de partager des unités physiques telles que des traceurs et des imprimantes avec les ordinateurs d'autres laboratoires, ainsi que de partager des informations telles que des fichiers de données et des méthodes.

Client/Serveur

Le logiciel ChemStation peut être installé sur un serveur de réseau approprié et transféré sur les PC clients selon les besoins. Chaque configuration spécifique au client garantit un environnement adéquat pour des techniques différentes et des utilisateurs individuels, tandis que l'installation centralisée du logiciel évite de devoir gérer de nombreuses copies de la même installation ChemStation dans un environnement de travail.

Contrôle des instruments en réseau

Le logiciel ChemStation assure la commande d'instruments et l'acquisition de données par le réseau local pour les appareils CPG Agilent 6890, module de commande A/N Agilent 35900E et les CPL Agilent série 1100. Vous pouvez facilement commander et surveiller vos instruments en les branchant au réseau local qui héberge le PC ChemStation. Il est ainsi possible que le PC de la ChemStation ne se trouve pas au même endroit que les instruments qu'il contrôle.

Documentation

Le jeu de documentation contient des sections spécifiques sur :

- l'installation et l'apprentissage du logiciel ChemStation,
- son utilisation,
- son principe de fonctionnement, et
- sa personnalisation.

Installation et apprentissage

Chaque produit logiciel ChemStation est accompagné d'un manuel d'installation contenant les détails suivants : matériel PC et logiciel nécessaires, installation de l'interface de l'instrument, installation de la ChemStation et qualification de l'installation. Le manuel d'installation est spécifique à la configuration achetée et il peut comprendre des sections sur la localisation des pannes, les enregistrements système et des conseils pour la maintenance du système.

Utilisation du logiciel

L'utilisateur dispose de deux autres catégories d'informations en ligne.

La ChemStation possède une aide en ligne contextuelle et indexée de style Windows. Elle explique en détail chaque écran et la signification des paramètres de cet écran. Les explications détaillées sont complétées par des graphiques si nécessaire, et peuvent être copiées sur le presse-papiers Windows pour être intégrées dans la propre documentation de l'utilisateur ou pour impression.

La partie Comment faire pour (How To) de l'aide en ligne inclut aussi des listes de contrôle des tâches chromatographiques, complexes et courantes, pour aider les utilisateurs occasionnels à installer le système correctement. Ces listes de contrôle sont reliées directement à l'aide en ligne détaillée.

Compréhension des principes

Le manuel *Comprendre votre ChemStation* explique les principes de fonctionnement du logiciel et les algorithmes utilisés dans les manipulations des données.

Personnalisation

Si des utilisateurs avertis souhaitent personnaliser le fonctionnement de la ChemStation ou y intégrer des fonctions supplémentaires, ils le peuvent en écrivant des macros.

Le manuel de référence élémentaire, *Guide de macro programmation* disponible dans l'aide en ligne, comprend un jeu étendu d'exemples fonctionnels assortis d'une description complète des types de données internes et des structures.

Le fichier d'aide des commandes, atteint directement à partir du menu Help de la ChemStation ou de la boîte de dialogue Show Command, constitue la référence des fonctions pour le programmeur. Il explique la syntaxe et les paramètres avec des exemples de macros illustrant l'utilisation de nombreuses commandes. Comme ils travaillent en ligne, les utilisateurs peuvent parfaitement copier les exemples et la syntaxe des commandes, directement dans leurs propres fichiers source macro.

La structure des répertoires ChemStation

L'exemple suivant montre la structure des répertoires de la ChemStation. Elle comprend des répertoires génériques partagés par tous les instruments configurés et des répertoires spécifiques aux instruments. Le programme d'installation du logiciel crée un sous-répertoire dans le répertoire ChemStation (par défaut CHEM32) pour chaque instrument configuré, avec le numéro de l'instrument. Les données, méthodes et séquences correspondant à cet instrument sont enregistrées par défaut dans ce sous-répertoire.

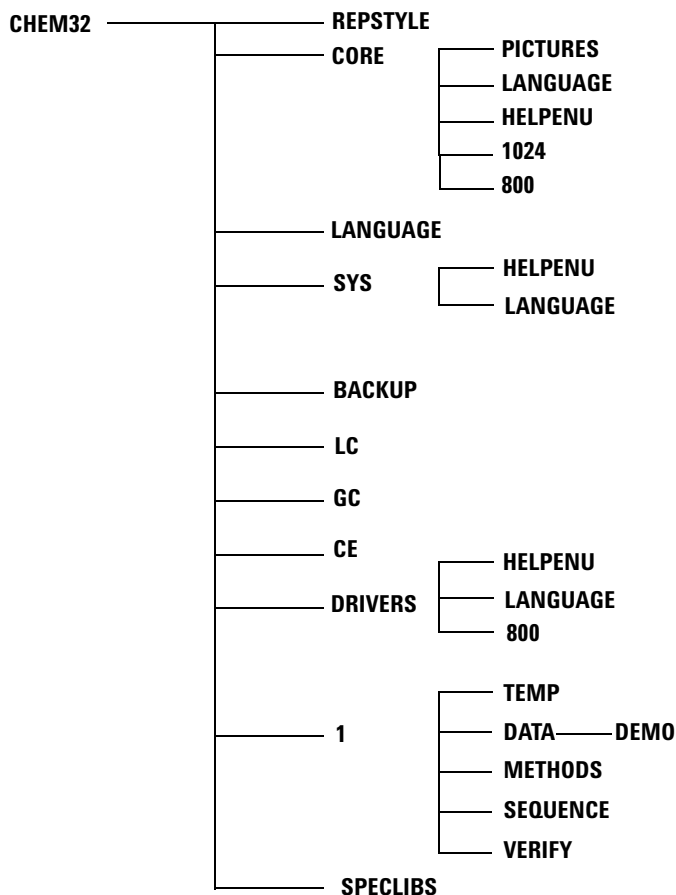


Figure 1 Structure des répertoires ChemStation

1 Caractéristiques des ChemStations

La structure des répertoires ChemStation

Les sous-répertoires ChemStation sont les suivants :

Tableau 3 Sous-répertoires ChemStation

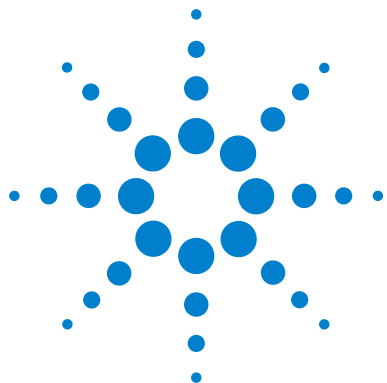
Répertoire	Sommaire
CHEM32	Ce répertoire comprend les programmes destinés à configurer et à démarrer le logiciel ChemStation. Il doit faire partie de la variable PATH (chemin). Ce répertoire est ajouté automatiquement par le programme d'installation, sauf si vous fournissez une autre solution.
REPSTYLE	Utilisé pour des modèles de rapports définis en utilisant le concepteur de rapports.
CORE	Utilisé pour les composants centraux du logiciel partagés par toutes les configurations d'instruments chromatographiques/électrophorographique. C'est le répertoire de travail de la ChemStation.
PICTURES	Contient les graphiques nécessaires à la ChemStation.
LANGUAGE	Utilisé pour le code spécifique au langage de cette partie du logiciel.
1024 and 800	Contient les fichiers d'initialisation pour l'interface utilisateur graphique. Ne pas modifier.
SYS	Comprend des composants génériques partagés par toutes les configurations d'instruments chromatographiques/électrophorographique. \chem32\sys doit faire partie de votre variable PATH. Par défaut, les programmes d'installation l'ajoutent.
HELPENU	Utilisé pour la version anglais-américain des fichiers d'aide pour la partie centrale du logiciel.
LANGUAGE	Utilisé pour les autres parties du logiciel spécifiques au langage.
BACKUP	Utilisé pour des copies de sauvegarde des anciens fichiers pendant l'installation.
DRIVERS	Comprend les questionnaires d'instruments configurés.
1	Utilisé pour l'instrument configuré (de 1 à 4). Comprend cinq sous-répertoires supplémentaires : DATA, METHODS, SEQUENCE, VERIFY, et TEMP.

Tableau 3 Sous-répertoires ChemStation (suite)

Répertoire	Sommaire
DATA	Comprend tous les répertoires de résultats de vos analyses. Il peut contenir d'autres sous-répertoires si vous structurez le disque avec des sous-répertoires pendant votre travail, en les définissant à l'aide de la boîte de dialogue Sample Information ou Sequence Parameters. Les répertoires de résultats sont identifiés par un nom avec une extension .D. Pour plus d'informations sur la structure des fichiers de données, voir "Fichiers de données" page 69.
METHODS	Contient tous les répertoires de méthodes d'extension .M. Pour plus de détails sur le contenu, voir "Structure du répertoire des méthodes" page 60.
SEQUENCE	Comprend les tableaux de séquence. Les fichiers de séquence dans ces répertoires ont une extension .S.
VERIFY	Comprend les fichiers de données, les méthodes et les résultats du traitement des données stockées dans les fichiers d'enregistrement (.REG). Ces fichiers exécutent la procédure de vérification décrite dans l'aide en ligne de la ChemStation. Un jeu de fichiers de données, de méthodes et de registres est utilisé pour chaque test de vérification
TEMP	Le sous-répertoire TEMP comprend les fichiers de travail temporaires et les fichiers «journal». Par exemple, pour l'instrument 1, le journal en ligne s'appelle INSTR1.LOG et le journal hors ligne s'appelle INSTR1-2.LOG.
LC, GC	Code spécifique au gestionnaire d'instrument tel que des fichiers INI. Ces répertoires ne sont présents que si un instrument de ce type est installé.
SPECLIBS	Comprend des bibliothèques spectrales. (ChemStations pour systèmes CPL, systèmes de couplage CPL/MS et systèmes d'électrophorèse capillaire (EC) seuls).

1 **Caractéristiques des ChemStations**

La structure des répertoires ChemStation



2 Méthodes

Qu'est-ce qu'une méthode ?	52
Parties d'une méthode	53
Information de méthode	53
Contrôle d'instrument	53
Analyse des données	54
Liste de contrôle d'exécution	55
Etat des méthodes	56
Méthode stockée	56
Méthode en cours	56
Création de ces méthodes	57
Modification des méthodes	58
Parties de la méthode à modifier	59
Structure du répertoire des méthodes	60
Que se passe-t-il lorsqu'une méthode est exécutée ?	61
Commande ou macro pré-analytique	62
Acquisition des données	62
Fonctionnement de la méthode	62
Analyse des données	63
Analyse personnalisée des données	64
Enregistrement des données BPL	65
Commande ou macro post-analytique	65
Sauvegarde d'une copie de la méthode avec les données	65
Résumé du fonctionnement de la méthode	66



Qu'est-ce qu'une méthode ?

Une méthode comprend tous les paramètres nécessaires pour l'acquisition et l'analyse des données, en même temps que les tâches pré et post-analytiques, si elles sont nécessaires, pour un échantillon donné.

Parties d'une méthode

Une méthode est identifiée par un nom contenant un maximum de huit caractères alphanumériques. Le nom du fichier est toujours suivi de l'extension .M pour l'identifier comme une méthode. Les méthodes sont stockées sous la forme de répertoires MS-DOS contenant les fichiers individuels associés aux composants de la méthode.

Chaque méthode comporte quatre composants :

- information de méthode,
- contrôle d'instrument,
- analyse des données, et
- liste de contrôle d'exécution.

Information de méthode

Cette section permet de définir les informations décrivant la méthode.

Contrôle d'instrument

Définit les paramètres de contrôle de l'instrument ou ses composants. Dans le cas d'un instrument CPL, des paramètres — tels que la composition de phase mobile, le débit, le volume d'injection, la longueur d'onde du détecteur, etc., — contrôlent la pompe, l'injecteur et le détecteur. Avec un instrument CPG, des paramètres — tels que la température d'entrée, la pression d'entrée, le réglage du débit de colonne remplie, etc., — contrôlent l'instrument.

Analyse des données

Définit les paramètres de contrôle du traitement des données.

Détails des signaux

Définit les signaux et leurs propriétés à utiliser pour l'évaluation des données.

Evénements d'intégration

Définit les événements fonction du temps (chronoprogammés) qui se produiront à des temps de rétention/migration spécifiques sur un chromatogramme/électrophérogramme. Ces événements modifient la façon dont l'intégration est effectuée.

Identification des pics

Définit les paramètres de traitement des données associés à l'identification des pics dans le chromatogramme/électrophérogramme.

Quantification des pics

Définit les paramètres de traitement des données qui affectent les calculs de quantification et qui déterminent la quantité ou la concentration du composant d'échantillon correspondant à chaque pic.

Etalonnage et ré-étalonnage

Définit les paramètres de traitement des données affectant l'étalonnage et sa fréquence.

Rapport

Définit le format du rapport imprimé après une analyse.

Liste de contrôle d'exécution

Définit quelles parties de la méthode sont concernées par l'exécution de celle-ci.

Vous pouvez utiliser la liste de contrôle d'exécution pour :

- acquérir, stocker et traiter les données servant à produire un rapport,
- n'exécuter qu'une partie de la méthode,
- acquérir et stocker des données sans les analyser,
- ré-analyser les fichiers de données existants,
- utiliser vos propres macros pour l'analyse de données, traitement pré- et post-analytique, et
- enregistrer les résultats d'une analyse dans un registre pour les BPL.

Etat des méthodes

Une méthode peut présenter deux états.

Méthode stockée

C'est une méthode stockée sur le disque de l'ordinateur. Les méthodes stockées ont un nom comportant huit caractères alphanumériques maximum, avec l'extension .M.

Méthode en cours

Lorsqu'une méthode stockée est rappelée à partir du disque, elle devient la méthode en cours. Il y a toujours une méthode en cours en mémoire. Lorsque la ChemStation est démarrée pour la première fois, la méthode par défaut fournie par Agilent Technologies est toujours chargée dans le cadre du processus de démarrage. Par exemple, ce peut être l'une des méthodes suivantes :

- DEF_GC.M pour un instrument CPG, ou
- DEF_CE.M pour un instrument EC.

Une copie de la méthode par défaut est placée en mémoire et devient la méthode en cours. Vous pouvez à ce stade charger une méthode différente qui deviendra la méthode en cours.

Création de ces méthodes

Créer une nouvelle méthode consiste toujours à modifier la méthode en cours puis à l'enregistrer sous un nouveau nom. Important : la méthode en cours n'est modifiée sur le disque qu'au moment de l'enregistrement.

Vous pouvez créer une méthode de plusieurs manières. Vous pouvez créer une méthode pour effectuer une ou toutes les parties d'une analyse. Par exemple, vous pouvez d'abord créer une méthode limitée à l'acquisition des données. Ensuite, lorsque vous serez prêt à analyser les données et à générer un rapport de recherche en bibliothèques, vous pourrez modifier la méthode pour effectuer ces tâches de traitement des données.

ATTENTION

Ne supprimez pas la méthode par défaut (DEF_LC.M, ou DEF_GC.M). En effet, ces fichiers de méthode servent de modèles pour créer des nouvelles méthodes.

Modification des méthodes

Vous pouvez modifier une méthode existante en utilisant la rubrique "Edit Entire Method" du menu de méthode. Après être passé par toutes les boîtes de dialogue de méthode, vous pouvez enfin enregistrer la méthode. Ce processus est illustré ci-dessous (Figure 2):

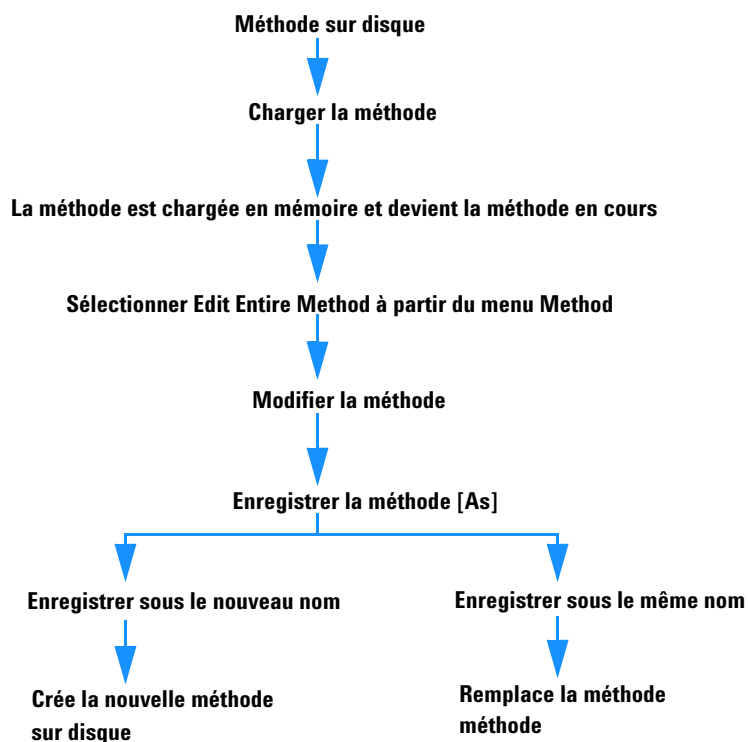


Figure 2 Modification des méthodes

Parties de la méthode à modifier

Chaque méthode est constituée de quatre composants qui peuvent être modifiés séparément.

Certaines des sous-sections suivantes font référence à des boîtes de dialogue spécifiques et certaines sont des descriptions générales.

- L'*Information de méthode* comprend :
 - un texte décrivant la méthode.
- Le *Contrôle d'instrument* dépend de la configuration, et peut comprendre, par exemple :
 - les paramètres du four,
 - les paramètres d'injecteur, et
 - les paramètres de détecteur.
- L'*Analyse des données* comprend :
 - les détails des signaux,
 - les paramètres d'intégration,
 - les paramètres de quantification,
 - les paramètres d'étalonnage, et
 - les paramètres de rapport.
- La *Liste de contrôle du moment d'exécution* comprend :
 - les parties de la méthode qui seront exécutées.

Structure du répertoire des méthodes

Une méthode est constituée d'un groupe de fichiers stockés dans un répertoire des méthodes.

Le sous-répertoire `methods` contient tous les sous-répertoires des méthodes ayant l'extension `.M`.

Les fichiers de méthode avec l'extension `.MTH` contiennent des jeux de paramètres et sont au format ASCII. Le fichier `INFO.MTH` contient les paramètres de contrôle de méthode.

Les fichiers de méthode contenant les paramètres d'instruments ont le nom du module d'analyse associé. Par exemple :

Tableau 4 Fichiers d'exemples de méthodes

LC1090.MTH	Contient la méthode d'acquisition 1090.
GC5890.MTH	Contient la méthode d'acquisition 5890.
HPCE1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour l'électrophorèse capillaire.
DAD1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le HP 1090.
FLD1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le détecteur à fluorescence HP1046.
ECD1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le détecteur électrochimique HP1049.
ADC1.MTH	Contient la méthode d'acquisition Agilent 35900. Si deux instruments identiques sont configurés, les fichiers de méthode s'appellent ADC1.MTH, ADC2.MTH.
DAMETHOD.REG	Pour l'évaluation des données.
LALS1.REG	Contient les paramètres de l'échantillonneur automatique Agilent série 1100. Les fichiers de méthode pour les autres modules Agilent série 1100 suivent la même convention <code>lxxx1.reg</code> où <code>xxx</code> est l'acronyme du module.

Que se passe-t-il lorsqu'une méthode est exécutée ?

La boîte de dialogue "Run Time Checklist" spécifie les parties de la méthode à exécuter lorsqu'une analyse est démarrée.

La liste comprend huit parties :

- commande ou macro pré-analytique,
- acquisition des données,
- analyse des données standard,
- méthode d'analyse pour le second signal (CPG seulement),
- analyse des données personnalisée,
- enregistrement des données BPL,
- commande ou macro post-analytique, et
- sauvegarde de la copie de la méthode avec les données.

Lorsqu'une méthode est démarrée, les parties spécifiées de la méthode définie dans la boîte de dialogue 'Run Time Checklist' sont exécutées.

Fonctionnement de la méthode

La [Figure 3](#) donne une vue d'ensemble de l'état de la ChemStation pendant le fonctionnement de la méthode, dans laquelle *toutes* les parties de la Run Time Checklist (liste de contrôle du moment d'exécution) sont sélectionnées.

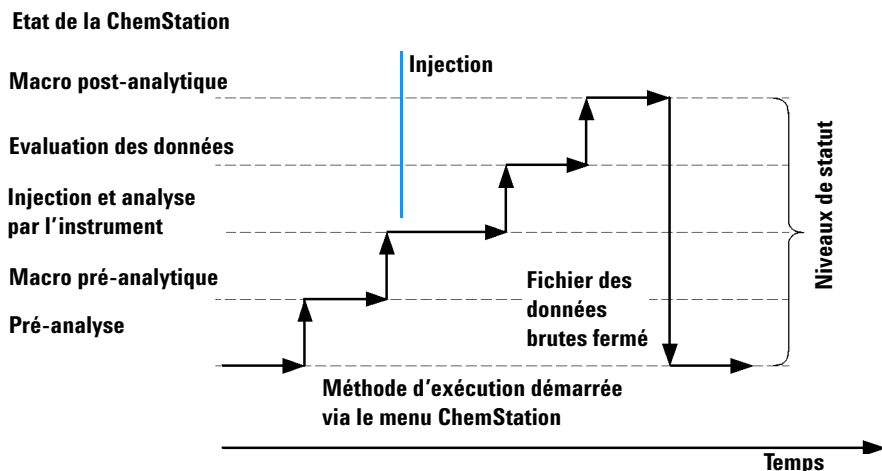


Figure 3 Exécution d'une méthode

Commande ou macro pré-analytique

Si une commande ou une macro pré-analytique est spécifiée, elle s'exécute avant le démarrage de l'analyse. Cette partie sert surtout pour la personnalisation du système en fonction d'autres modules logiciels.

Acquisition des données

- Tous les paramètres sont réglés sur les conditions initiales spécifiées dans la méthode en cours.
- Si spécifié, le programme d'injection est exécuté et une injection a lieu à partir du flacon actuellement défini.

- L'affichage du moniteur montre la progression de l'analyse, y compris les informations chromatographiques/électrophérogaphique et les données spectrales éventuelles.
- Les données sont acquises et stockées dans un fichier de données.

Analyse des données

Une fois le stoptime (temps avant arrêt) écoulé, l'analyse est terminée et toutes les données brutes sont stockées sur le disque dur de l'ordinateur. La partie analyse des données du logiciel démarre après le stockage de toutes les données brutes.

Intégration

- Les objets (chromatogramme/électrophérogramme) dans le signal sont intégrés comme spécifié dans la boîte de dialogue Integration Events.
- Le début du pic, son sommet, le temps de rétention/migration et la fin du pic, sont déterminés.
- Les lignes de base sont définies sous chaque pic pour déterminer la hauteur et l'aire du pic final.
- Les résultats d'intégration sont placés dans une liste des résultats d'intégration.

Identification et quantification des pics

- En utilisant les temps de rétention/migration et les qualificateurs de pic facultatifs, le logiciel identifie les pics en les associant aux composants connus définis dans le tableau d'étalonnage.
- En utilisant les hauteurs ou les aires de pics, le logiciel calcule la quantité de chaque composant détecté, en utilisant les paramètres d'étalonnage spécifiés dans le tableau d'étalonnage.

2 Méthodes

Que se passe-t-il lorsqu'une méthode est exécutée ?

Recherche en bibliothèque de spectres (ChemStations pour systèmes CPL 3D, EC, EC/SM et CPL/SM seulement)

Pour tous les pics disposant de spectres UV, une recherche automatisée dans une bibliothèque de spectres prédéfinie peut être conduite pour identifier les composants de l'échantillon d'après leurs spectres UV. Voir le manuel *Comprendre votre module de traitement de spectre* pour plus d'informations.

Vérification de la pureté des pics (ChemStations pour systèmes CPL 3D, EC, EC/SM et CPL/SM seulement)

Pour un pic disposant de spectres UV, vous pouvez calculer un facteur de pureté, et le stocker dans un registre. La pureté du pic peut être déterminée automatiquement à la fin de chaque analyse dans le cadre de la méthode, lorsque la case "Check Purity" est cochée lors de la spécification d'une recherche en bibliothèque automatisée, ou qu'un style de rapport approprié est sélectionné. Voir le manuel *Comprendre votre module de traitement de spectre* pour plus d'informations.

Rapport imprimé

Un rapport contenant les identités et les quantités de composants détectés dans l'analyse, est généré.

Analyse personnalisée des données

Vous permet d'exécuter vos propres macros personnalisées pour évaluer vos données analytiques.

Enregistrement des données BPL

Enregistre le registre binaire GLPSave.Reg en même temps que la méthode d'analyse des données, dans le sous-répertoire du fichier de données par défaut. Cette fonction est destinée à prouver l'originalité des données et la qualité de l'analyse individuelle.

Le fichier binaire GLPSave.Reg contient dans un fichier d'enregistrement non modifiable protégé, les informations suivantes :

- points définis pour l'instrument (peut être examiné sous forme graphique),
- signaux chromatographique ou électrophérogaphique,
- résultats de l'intégration,
- résultats de la quantification,
- méthode d'analyse des données, et
- journal.

Ces données ne sont enregistrées que si la fonction "Save GLP Data" est activée en cochant la case dans la liste de contrôle. Vous pouvez examiner, mais pas modifier, les données BLP (GLP) dans le menu d'analyse des données de la ChemStation.

Commande ou macro post-analytique

Si une commande ou une macro post-analytique est spécifiée, elle est exécutée après l'évaluation des données. Par exemple, copie des données sur un disque pour des raisons de sauvegarde.

Sauvegarde d'une copie de la méthode avec les données

Cette opération est effectuée après l'acquisition des données, et seulement si Data Acquisition est activée dans la Run Time Checklist. Elle copie la méthode *en cours* dans le répertoire des données.

Résumé du fonctionnement de la méthode

La liste suivante montre comment se déroule le fonctionnement de la méthode lorsque toutes les parties de la Run Time Checklist sont sélectionnées.

1 *Commande ou macro pré-analytique*

Effectue une tâche avant que l'analyse ne soit démarrée.

2 *Acquisition des données*

Exécution du programme d'injecteur.

Injection de l'échantillon.

Acquisition des données brutes.

Stockage des données.

3 *Sauvegarde d'une copie de la méthode avec les données*

4 *Analyse des données (traitement de données)*

Chargement du fichier de données.

Intégration du fichier de données.

Identification et quantification de pic.

Recherche en bibliothèque de spectres si disponible.

Test de la pureté des pics si disponible.

Impression du rapport.

5 *Analyse personnalisée des données*

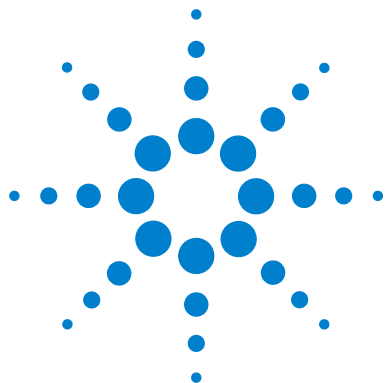
Exécution de vos macros.

6 *Sauvegarde des données BPL*

Sauvegarde de l'enregistrement binaire GLPSave.Reg

7 *Commande ou macro post-analytique*

Exécution d'une tâche après l'analyse. Par exemple, génération d'un rapport personnalisé.



3

Acquisition des données

Qu'est-ce que l'acquisition des données ? 68

Fichiers de données 69

Moniteurs en ligne 70

Moniteur de signaux en ligne 70

Moniteur de spectres en ligne 70

Logbook 71

Informations d'état 72

Etat de la ChemStation 72

Barre d'état 72

Diagramme du système 73



3 Acquisition des données

Qu'est-ce que l'acquisition des données ?

Qu'est-ce que l'acquisition des données ?

Pendant l'acquisition des données, tous les signaux analogiques acquis par l'instrument analytique sont convertis en signaux numériques par le détecteur. Le signal numérique est transmis électroniquement à la ChemStation et stocké dans le fichier de données de signaux.

Fichiers de données

Un fichier de données est constitué d'un groupe de fichiers stockés dans le répertoire DATA, en tant que sous-répertoire avec un nom de fichier de données et une extension .D. Un nom de fichier défini manuellement peut avoir jusqu'à 40 caractères y compris l'extension. Chaque fichier présent dans le répertoire obéit à une convention de nom.

Tableau 5 Fichiers de données

Nom	Description
*.CH	Fichiers de données de signaux chromatographiques/électrophérogaphique. Le nom du fichier comprend le type du module ou du détecteur, le numéro du module et l'identification du signal ou du canal. Ex. ADC1A.CH, où ADC est le type du module, 1 le numéro du module, A l'identificateur du signal et .CH l'extension chromatographique.
*.UV	Fichiers de données spectrales UV. Le nom du fichier comprend le type de détecteur et le numéro d'unité (seulement avec les détecteurs à barrette de diodes et à fluorescence).
REPORT.TXT	Fichiers de données de rapport pour les fichiers de données de signaux équivalents. Le nom du fichier comprend le type de détecteur, le numéro du module et l'identification du signal ou du canal, par exemple, ADC1A.TXT.
SAMPLE.MAC	Macro d'information d'échantillon.
RUN.LOG	Entrées du journal générées pendant une analyse. Le journal garde l'enregistrement de l'analyse. Il reçoit tous les messages d'erreur, ainsi que les changements de statut importants survenus sur la ChemStation.
LCDIAG.REG	Pour CPL seulement. Contient les courbes d'instrument (gradients, température, pression, etc.), le volume d'injection et les descriptions des solvants.
ACQRES.REG	Contient des informations de colonnes. Pour la CPG, il contient aussi le volume d'injection.
GLPSAVE.REG	Partie du fichier quand Save GLP Data est spécifié.

La méthode peut être stockée avec les fichiers résultats. Auquel cas le répertoire des méthodes est stocké en tant que sous-répertoire dans le répertoire des fichiers des données.

Moniteurs en ligne

Il existe deux types de moniteurs en ligne : le moniteur de signaux en ligne, et le moniteur de spectres en ligne.

Moniteur de signaux en ligne

Le moniteur de signaux en ligne vous permet de superviser plusieurs signaux et, si l'instrument associé le permet, le tracé de performances de l'instrument dans la même fenêtre. Vous pouvez facilement sélectionner les signaux que vous souhaitez visualiser et ajuster les axes de temps et d'absorbance. Pour les détecteurs qui supportent cette fonction, un bouton Balance est disponible.

Vous pouvez afficher la réponse de signal absolu dans la ligne de message, en déplaçant le curseur en forme de viseur dans l'affichage.

Moniteur de spectres en ligne

Le moniteur de spectres en ligne n'est disponible que pour les ChemStations qui supportent l'évaluation spectrale. Il montre l'absorbance en tant que fonction de la longueur d'onde. Vous pouvez ajuster à la fois la gamme de longueurs d'onde affichée et l'échelle d'absorbance.

Logbook

Le journal affiche les messages générés par le système analytique. Ces messages peuvent être des messages d'erreur, des messages système, ou des messages provenant d'un module. Ces événements sont enregistrés dans le journal, que celui-ci soit affiché ou non. Pour obtenir un complément d'information sur un événement présent dans le journal, double-cliquez sur la ligne appropriée pour afficher un texte d'aide descriptif.

Informations d'état

Etat de la ChemStation

La fenêtre "ChemStation Status" montre un état résumé du logiciel ChemStation.

Lorsqu'une analyse unique est en cours d'exécution :

- la première ligne de la fenêtre ChemStation Status affiche "Run in Progress",
- la seconde ligne affiche l'état de la méthode en cours, et
- le nom du fichier de données brutes apparaît sur la troisième ligne, avec le temps d'exécution réel en minutes (dans le cas d'un instrument CPG, les fichiers pour les injecteurs avant et arrière sont également affichés).

Les fenêtres "Instrument Status" donnent des informations sur l'état des modules d'instruments et de détecteurs. Elles indiquent l'état des composants individuels et les conditions en cours le cas échéant, par exemple : pression, gradient et données de débit.

Barre d'état

L'interface graphique utilisateur du système ChemStation comprend des barres d'outils et une barre d'état dans la vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse) de la ChemStation. La barre d'état contient un champ d'état du système et des informations sur la méthode et la séquence actuellement chargée. Si elles ont été modifiées après le chargement, elles sont marquées d'un triangle rouge. Pour un module Série Agilent 1100 pour CLHP, un symbole EMF (maintenance prédictive) jaune rappelle à l'utilisateur que les limites d'utilisation définies pour les consommables (par exemple, la lampe) ont été dépassées.

Diagramme du système

Si les instruments d'analyse configurés le permettent (par exemple, pour les modules Série Agilent 1100 pour CLHP ou le CPG Série Agilent 6890), vous pouvez afficher le diagramme de votre système ChemStation. Vous pouvez ainsi visualiser, d'un coup d'œil, l'état du système. Sélectionnez la rubrique "System Diagram" dans le menu "View" de la vue "Method and Run Control" pour activer le diagramme. C'est une représentation graphique de votre système ChemStation. Chaque composant est représenté par une icône. L'état en cours est affiché, avec le codage de couleurs décrit ci-dessous.

Tableau 6 Codage couleur du schéma du système

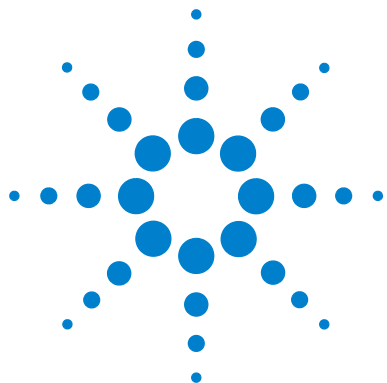
Couleur	Etat
gris	inactif ou éteint
jaune	non prêt
vert	prêt
bleu	exécution
rouge	erreur

Vous pouvez en outre afficher les listes des valeurs de paramètres réelles. Outre une vue d'ensemble d'état, le diagramme permet d'accéder rapidement à des boîtes de dialogue permettant de définir des paramètres pour chaque composant du système.

Pour plus d'informations sur le diagramme du système, voir la partie Instrument du système d'aide en ligne.

3 Acquisition des données

Informations d'état



4 Intégration

Qu'est-ce que l'intégration ?	77
Que fait l'intégration ?	77
Les algorithmes d'intégration de la ChemStation	78
Possibilités d'intégration	78
Description générale	80
Définition de la ligne de base initiale	81
Suivi de la ligne de base	81
Attribution de la ligne de base	82
Identification des points cardinaux d'un pic	84
Terminologie	85
Points cardinaux	85
Pic de solvant	85
Epaulements (avant, arrière)	86
Pente	86
Principe de fonctionnement	87
Identification d'un pic	88
Largeur du pic	88
Filtres de reconnaissance de pic	89
Regroupement de tranches d'intégration	90
L'algorithme de reconnaissance du pic	92
Calculs non Gaussiens	95
Attribution de la ligne de base	97
Construction de la ligne de base par défaut	97
Le début de la ligne de base	98
Graduations	98
La fin de la ligne de base	98
Pénétration de la ligne de base	99
Advanced Baseline Tracking (Suivi évolué de la ligne de base)	100



Intégration tangentielle	102
Pics non attribués	108
Codes de séparation des pics	109
Caractères 1 et 2	109
Caractère 3	109
Caractère 4	110
Mesure de l'aire du pic	111
Détermination de l'aire	112
Unités et facteurs de conversion	113
Événements d'intégration	114
Événements initiaux	114
Largeur du pic	115
Rejet de hauteur et de largeur de pic	116
Optimisation de l'intégration	116
Événements chronoprogrammés	117
Auto-intégration	118
Description générale	118
Principes de fonctionnement	118
Paramètres d'auto-intégration	119
Description générale	120
Intégration manuelle	120
Codes de séparation de pics pour les pics intégrés manuellement	121
Documentation des événements d'intégration manuelle	121

Qu'est-ce que l'intégration ?

L'intégration localise les pics dans un signal et calcule leur taille.

C'est une étape nécessaire pour :

- la quantification,
- les calculs de pureté des pics (pour les ChemStations pour CPL 3D, CE, CE/MS et les systèmes de couplage CPL/MS seuls), ainsi que
- la recherche en bibliothèque spectrale (ChemStations pour CPL 3D, CE, CE/MS et les systèmes de couplage CPL/MS seuls).

Que fait l'intégration ?

Lorsqu'un signal est intégré, le logiciel :

- identifie un temps de début et de fin pour chaque pic et marque ces points avec des graduations verticales,
- trouve le sommet de chaque pic ; c'est-à-dire le temps de rétention/migration,
- construit une ligne de base, et
- calcule l'aire, la hauteur et la largeur pour chaque pic.

Ce processus est contrôlé par des paramètres appelés événements d'intégration.

Les algorithmes d'intégration de la ChemStation

L'algorithme d'intégration de la ChemStation est la deuxième version d'une nouvelle génération qui vise à plus de robustesse, de fiabilité et de simplicité d'utilisation.

Possibilités d'intégration

Les algorithmes d'intégration comprennent les possibilités principales suivantes :

- une possibilité d'auto-intégration utilisée pour établir les paramètres d'intégration initiaux,
- la capacité de définir des tables d'événements d'intégration individuelles pour chaque signal chromatographique/électrophérogaphique si l'on utilise des signaux multiples ou plus d'un détecteur,
- la définition interactive des événements d'intégration permettant à l'utilisateur de sélectionner graphiquement des temps d'événement,
- l'intégration graphique manuelle ou «élastique» de chromatogramme/électrophérogramme nécessitant une interprétation humaine (ces événements peuvent aussi être enregistrés dans la méthode et utilisés dans le cadre de l'exploitation automatisée),
- l'affichage et l'impression des résultats d'intégration, et
- la capacité d'intégrer au moins 1000 pics par chromatogramme/électrophérogramme.
- définitions de paramètres d'intégration permettant de régler ou de modifier les paramètres de l'intégrateur de base pour le rejet d'aire, le rejet de hauteur, la largeur de pic et la sensibilité de pente,
- des paramètres de contrôle de la ligne de base, tels que forcer la ligne de base, maintenir la ligne de base, ligne de base sur toutes les vallées, ligne de base à la vallée suivante, première ligne de base vers l'arrière à partir de la fin du pic courant,

- contrôle de la sommation d'aires,
- reconnaissance de pic négatif,
- traitement de l'intégration tangentielle, y compris des commandes de définition de pic de solvant,
- possibilité de définir des tables d'événements de calculs d'intégration tangentielle sur front ou traînée individuellement pour *tous* les signaux chromatographiques/électrophérogaphique,
- possibilité de paramètres de correction de ligne de base (sans relation au signal),
- des commandes de contrôle de l'intégrateur définissant des gammes de temps de rétention/migration pour l'exploitation de l'intégrateur,
- allocation de l'épaulement de pic par l'utilisation d'une dérivée seconde ou degré de calculs de courbure, et
- échantillonnage amélioré de points de données non équidistants pour de meilleures performances avec des fichiers de données CPL DAD reconstruits à partir des spectres DAD.

Description générale

Pour intégrer un chromatogramme/électrophérogramme avec l'intégrateur :

- 1 définit la ligne de base initiale,
- 2 suit et met à jour continuellement la ligne de base,
- 3 identifie le temps de début pour un pic et marque ce point avec une graduation verticale,
- 4 détermine l'emplacement du sommet de chaque pic et imprime le temps de rétention/migration,
- 5 identifie le temps de fin pour un pic et marque ce point avec une graduation verticale,
- 6 construit une ligne de base, et
- 7 calcule l'aire, la hauteur et la largeur pour chaque pic.

Ce processus est contrôlé par des *événements d'intégration*. Les événements les plus importants sont *initial slope sensitivity* (*seuil de pente initiale*) et *height reject* (*rejet de hauteur*). Vous pouvez définir des valeurs initiales pour ces événements et pour d'autres. Les valeurs initiales prennent effet au début du chromatogramme. De plus, la fonction d'intégration automatique fournit un ensemble d'événements initiaux que vous pouvez optimiser ultérieurement.

Dans la plupart des cas, les événements initiaux donnent de bons résultats d'intégration sur la totalité du chromatogramme, mais parfois vous souhaitez mieux contrôler la progression d'une intégration.

Le logiciel permet de contrôler le mode d'intégration en vous permettant de programmer de nouveaux événements d'intégration à des temps appropriés sur le chromatogramme.

Pour plus d'informations, voir "[Événements d'intégration](#)" à la page 114.

Définition de la ligne de base initiale

Les conditions de la ligne de base dépendent de l'application et du matériel utilisé pour le détecteur, l'intégrateur utilise donc des paramètres provenant de la méthode comme du fichier de données pour optimiser la ligne de base.

Pour que l'intégrateur puisse intégrer des pics, celui-ci doit établir un *point de ligne de base*. Au début de l'analyse, l'intégrateur définit un niveau de ligne de base initiale, en prenant le premier point de données comme ligne de base provisoire. Il essaie ensuite de redéfinir ce point de ligne de base initial en se basant sur la moyenne du signal d'entrée. S'il n'obtient pas un point de ligne de base initial redéfini, il garde le premier point de données comme point de ligne de base initiale potentiel.

Suivi de la ligne de base

L'intégrateur échantillonne les données numériques à une fréquence déterminée par la largeur de pic initiale ou par la largeur de pic calculée, au fur et à mesure de l'analyse. Il considère chaque point de données comme un point de ligne de base potentiel.

L'intégrateur détermine une *enveloppe de ligne de base* à partir de sa pente ; dans l'algorithme de suivi, la pente est la dérivée première et la courbure la seconde dérivée. L'enveloppe de ligne de base peut être vue comme un cône, dont la pointe se situe au point de données en cours. Les niveaux d'acceptation supérieure et inférieure du cône sont :

- + pente montante + courbure + décalage de ligne de base doit être inférieur au niveau de seuil,
- - pente montante - courbure + décalage de ligne de base doit être plus positive (c'est-à-dire moins négative) que le niveau de seuil.

Au fur et à mesure de l'acceptation de nouveaux points de données, le cône avance jusqu'à l'apparition d'une rupture.

Pour être accepté comme point de ligne de base, un point de données doit répondre aux conditions suivantes :

- il doit se trouver à l'intérieur de l'enveloppe de ligne de base définie,

- la courbure de la ligne de base au point de donnée (déterminée par les filtres de dérivation), doit être inférieure à une valeur critique, déterminée par le réglage de sensibilité de pente en cours.

Le point de ligne de base initial, établi au début de l'analyse, est ensuite révisé continuellement à une fréquence déterminée par la largeur du pic, pour la *moyenne mobile* des points de données inclus *dans l'enveloppe de la ligne de base* sur une période déterminée par la largeur du pic. L'intégrateur suit et révisé périodiquement la ligne de base pour compenser sa dérive, jusqu'à la détection d'un front montant de pic.

Attribution de la ligne de base

L'intégrateur attribue la ligne de base chromatographiques/électrophorographique pendant l'analyse à une fréquence définie par la valeur de largeur de pic. Quand l'intégrateur a échantillonné un certain nombre de points de données, il réinitialise la ligne de base du point de ligne de base initial au point de ligne de base en cours. L'intégrateur reprend le suivi de la ligne de base sur les points de données suivants définis et réinitialise à nouveau la ligne de base. Ce processus continue jusqu'à ce que l'intégrateur identifie le début d'un pic.

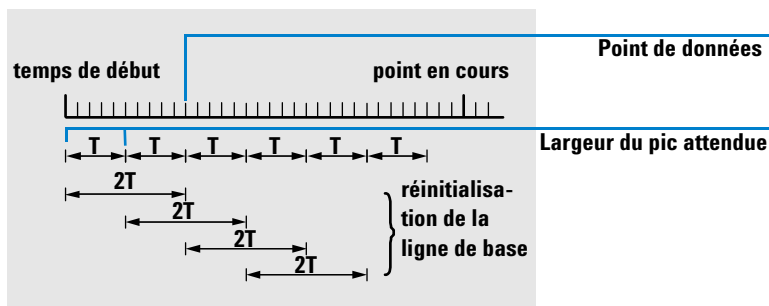


Figure 4 Ligne de base

Au début de l'analyse, ce réglage de ligne de base est utilisé comme ligne de base initiale. Si la valeur n'est pas définie, c'est le premier point de données qui est utilisé. Ce point de données est ensuite révisé périodiquement selon la formule suivante :

Les aires sont additionnées sur un temps T (largeur de pic attendue) Ce temps ne peut jamais être inférieur à l'intervalle entre les points de données. La procédure se poursuit tant que la condition sur la ligne de base existe. La pente et la courbure sont aussi calculées. Si la pente et la courbure sont toutes deux inférieures au seuil, deux aires sommées sont ajoutées, et comparées avec la ligne de base précédente. Si la nouvelle valeur est inférieure à la ligne de base précédente, cette nouvelle valeur remplace immédiatement la précédente. Si la nouvelle valeur est supérieure à la précédente, elle est enregistrée comme valeur possible de nouvelle ligne de base et confirmée si une ou plusieurs valeurs sont conformes aux critères de pente et de platitude de la courbure. Cette dernière limitation n'est pas prise en compte si les pics négatifs sont autorisés. Pendant le suivi de la ligne de base, un contrôle doit aussi être effectué pour examiner les solvants à montée rapide. Ceux-ci peuvent être trop rapides pour la détection de front montant. (Au moment où la pente montante est confirmée, le critère de solvant peut ne plus être valide). A la première occurrence le premier point de données est sur la ligne de base. Il est remplacé par la moyenne sur $2 T$ si le signal est sur la ligne de base. La ligne de base est ensuite réinitialisée à chaque période T (voir [Figure 4](#) à la page 82).

Identification des points cardinaux d'un pic

L'intégrateur détermine qu'un pic pourrait être en cours lorsque les points de ligne de base potentiels se situent hors de l'enveloppe de la ligne de base et que la courbure de la ligne de base dépasse une certaine valeur, définie par le paramètre de seuil de l'intégrateur. Si cette condition persiste, l'intégrateur reconnaît le front montant d'un pic, le pic est alors traité.

Début

- 1** Pente et courbure dans la limite : suivre la ligne de base.
- 2** Pente et courbure au-dessus de la limite : possibilité d'un pic.
- 3** La pente reste au-dessus de la limite : pic reconnu, point cardinal défini.
- 4** La courbure devient négative : point d'inflexion avant.

Sommet

- 5** La pente passe par zéro et devient négative : sommet du pic, point cardinal défini.
- 6** La courbure devient positive : point d'inflexion arrière.

Fin

- 7** Pente et courbure dans la limite : la fin du pic est proche.
- 8** La pente et la courbure restent dans la limite : fin du pic, point cardinal défini.
- 9** L'intégrateur revient en mode suivi de la ligne de base.

Terminologie

Points cardinaux

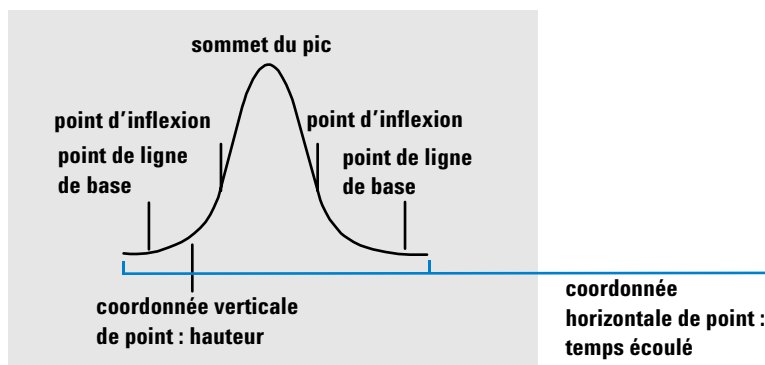


Figure 5 Points cardinaux

Les points cardinaux sont ceux choisis par l'intégrateur pour définir et quantifier un pic. Les points de ligne de base, les points de vallée, le sommet du pic et les points d'inflexion sont désignés comme points cardinaux et enregistrés. Chaque point cardinal est caractérisé par une coordonnée horizontale de temps écoulé, une coordonnée verticale de hauteur à partir de la ligne de base et d'autres paramètres, par exemple le type de pic, les codes de séparation, les valeurs de début et de fin de pic potentiel, ainsi que les hauteurs, aires et pentes correspondantes, utilisés par l'intégrateur pour calculer les aires des pics.

Pic de solvant

Le pic de solvant est généralement très grand, mais ne joue aucun rôle sur le plan analytique et n'est pas intégré habituellement. Cependant, lorsque de petits pics, intéressants analytiquement parlant, sont élués tout près du pic de solvant, par exemple, pendant la traînée du pic de solvant, des conditions d'intégration particulière peuvent être définies pour calculer une aire qui tient compte de la traînée du pic de solvant.

Épaulements (avant, arrière)

Les épaulements apparaissent quand deux pics sont si proches qu'il n'existe plus de vallée entre eux, ils ne sont donc pas résolus. Les épaulements peuvent apparaître sur le front montant (avant) du pic ou sur le front descendant (traîne) du pic. Lors de la détection d'épaulement, il est possible de les intégrer par intégration tangentielle ou projection sur la ligne de base.

Pente

La pente d'un pic reflète le changement de la concentration du composé en fonction du temps, elle sert à déterminer le point de départ du pic, son sommet et sa fin.

Principe de fonctionnement

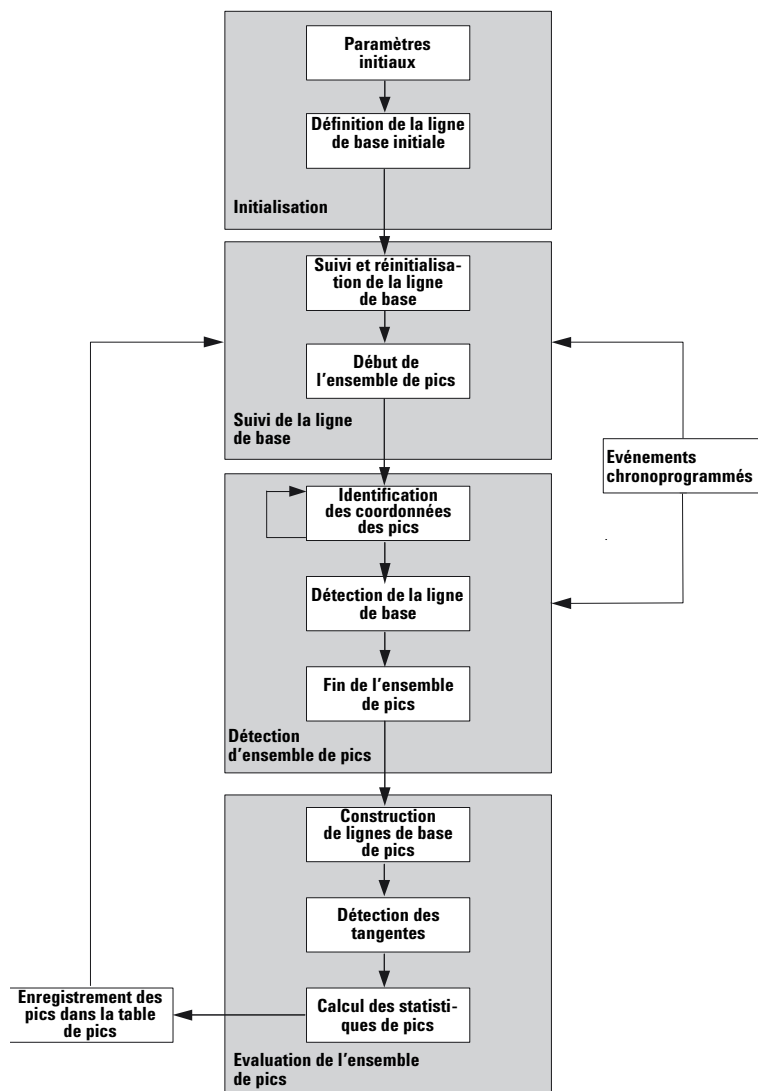


Figure 6 Diagramme de fonctionnement de l'intégrateur

Identification d'un pic

L'intégrateur utilise différents *outils* pour reconnaître et caractériser un pic :

- la largeur du pic,
- les filtres de reconnaissance du pic,
- le regroupement de tranches d'intégration (bunching),
- l'algorithme de reconnaissance du pic,
- l'algorithme de sommet du pic, et
- des calculs non gaussiens (par exemple de traînée, fusion de pics).

Largeur du pic

Pendant l'intégration, la largeur du pic est calculée à partir de l'aire et de la hauteur du pic :

$$Width = Area/Height$$

ou, si les points d'inflexion sont disponibles, à partir de la largeur entre les points d'inflexion.

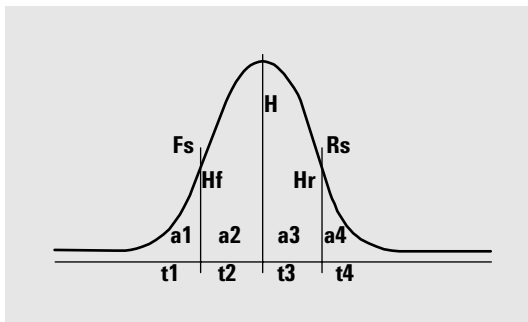


Figure 7 Calcul des largeurs de pics

Sur la [Figure 7](#), l'aire totale, A, est la somme des aires a1, a2, a3 et a4. Fs est la pente avant au point d'inflexion, Rs est la pente arrière au point d'inflexion. Si l'un ou l'autre point d'inflexion est introuvable, la largeur de pic est définie par :

$$Width = \text{Adjusted area} / \text{Adjusted height}$$

Le paramètre de largeur de pic gère la capacité de l'intégrateur à distinguer les pics du bruit de la ligne de base. Pour de bonnes performances, la largeur du pic doit être fixée proche de la largeur des pics chromatographiques/électrophorographiques réels.

La largeur du pic peut être changée de trois manières :

- avant l'analyse, vous pouvez spécifier la largeur initiale du pic,
- pendant l'analyse, l'intégrateur met automatiquement à jour la largeur du pic de manière à maintenir une bonne correspondance avec les filtres de reconnaissance du pic,
- pendant l'analyse, vous pouvez réinitialiser ou modifier la largeur de pic par un événement chronoprogammé.

Pour consulter les définitions de largeurs de pics utilisées par les calculs d'adéquation du système, consultez le [Chapitre 4](#), "Intégration" section "Largeur du pic" à la page 88.

Filtres de reconnaissance de pic

L'intégrateur comporte trois filtres de reconnaissance de pic qu'il utilise pour reconnaître les pics en détectant des variations de la pente et de la courbure dans un ensemble de points de données contigus. Ces filtres contiennent la dérivée première (pour mesurer la pente) et la dérivée seconde (pour mesurer la courbure) des points de données analysés par l'intégrateur. Les filtres de reconnaissance sont :

- Filtre 1** Pente (courbure) de deux (trois) points de données contigus
- Filtre 2** Pente de quatre points de données contigus et courbure de trois points de données non contigus
- Filtre 3** Pente de huit points de données contigus et courbure de trois points de données non contigus

Le filtre réel utilisé est déterminé par le réglage de largeur du pic. Par exemple, au début d'une analyse, le filtre 1 peut être utilisé. Si la largeur de pic augmente pendant l'analyse, le filtre passe au filtre 2, puis au filtre 3. Pour que les filtres de reconnaissance soient performants, la largeur du pic doit être réglée proche de la largeur des pics chromatographiques/électrophérogaphiques réels. Pendant l'analyse, l'intégrateur met à jour la largeur de pic si nécessaire pour optimiser l'intégration.

L'intégrateur calcule la largeur de pic mise à jour de différentes façons, selon la configuration d'instrument :

Pour les configurations CPL/CE, le calcul de largeur de pic par défaut utilise un calcul composite

$$(0.3 \times \text{Right inflection point} - \text{Left inflection point}) + 0.7 \times \text{Area/Height}$$

Pour les configurations CPG, le calcul de largeur de pic par défaut utilise aire/hauteur. Ce calcul ne surestime pas la largeur quand des pics sont fusionnés au-dessus du point de mi-hauteur.

Dans certains types d'analyse, par exemple les analyses CPG isotherme et CPL isocratique, les pics peuvent s'élargir notablement au cours de l'analyse. Pour compenser cela, l'intégrateur met à jour automatiquement la largeur du pic au fur et à mesure que les pics s'élargissent pendant une analyse. Il le fait automatiquement, sauf si la mise à jour a été désactivée ou si la largeur de pic a été définie à une valeur particulière par un événement chronoprogrammé.

La mise à jour de la largeur du pic est pondérée de la manière suivante :

$$0.75 \times (\text{existing peak width}) + 0.25 \times (\text{width of current peak})$$

Si un événement d'intégration programmé désactive ou définit la largeur du pic à une valeur particulière, l'ajustement automatique de la largeur du pic est désactivé.

Regroupement de tranches d'intégration

Le regroupement est le moyen utilisé par l'intégrateur pour conserver les pics élargis dans la plage efficace des filtres de reconnaissance de pics et conserver une bonne sélectivité.

L'intégrateur ne peut continuer à augmenter indéfiniment la largeur des pics. En effet, au-delà d'une certaine largeur, les filtres de reconnaissance des pics ne pourraient plus voir les pics. Pour outrepasser cette limitation, l'intégrateur regroupe les points de données, ce qui revient à réduire la largeur du pic en conservant la même aire.

Lors du regroupement de données, les points sont regroupés par deux puissance facteur de regroupement, c'est-à-dire sans regroupement = 1x, regroupés une fois = 2x, regroupés deux fois = 4x, etc.

Le regroupement se base sur la fréquence d'échantillonnage des données et la largeur de pic. L'intégrateur utilise ces paramètres pour définir le facteur de regroupement et donner le nombre de points de données approprié (voir [Tableau 7](#)).

Le regroupement s'effectue par puissance de deux en fonction de la largeur de pic attendue ou reconnue. L'algorithme de regroupement est résumé dans le [Tableau 7](#) :

Tableau 7 Critères de regroupement

Largeur de pic attendue	Filtre(s) utilisé(s)	Regroupement effectué
0 -10 points de données	Premier	Aucun
8 -16 points de données	Deuxième	Aucun
12 -24 points de données	Troisième	Aucun
16 -32 points de données	Deuxième	Une fois
24 -48 points de données	Troisième	Une fois
32 -96 points de données	Troisième, deuxième	Deux fois
64 - 192 points de données	Troisième, deuxième	Trois fois

L'algorithme de reconnaissance du pic

L'intégrateur identifie le début du pic avec un point de ligne de base déterminé par l'algorithme de reconnaissance de pic. L'algorithme de reconnaissance de pic compare en premier les sorties des filtres de reconnaissance de pic à la valeur de seuil de la sensibilité de pente initiale pour augmenter ou diminuer l'accumulateur de pente montante. L'intégrateur déclare le point auquel la valeur de l'accumulateur de pente montante est ≥ 15 comme point indiquant le début d'un pic.

L'algorithme de reconnaissance de pic est présenté sur la [Figure 8](#).

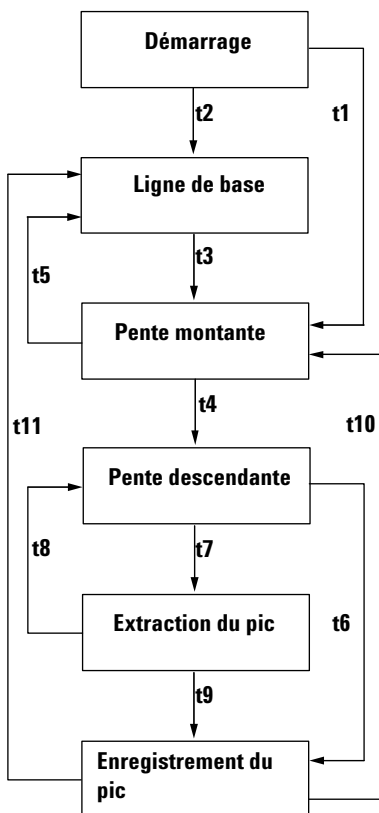


Figure 8 Reconnaissance d'un pic

Les critères sont les suivants :

- t1** Le compteur de pente montante est supérieur ou égal à 1
- t2** Le compte de pente montante est égal à zéro
- t3** Le compteur de pente montante est supérieur ou égal à 2
- t4**
 - Sommet de pic détecté et demi-largeur de pic détectée ou
 - Sommet de pic détecté et compteur de pente descendante supérieur ou égal à 2
- t5**
 - Abandon de pic ou
 - Réinitialisation immédiate de la ligne de base
- t6**
 - Vallée de pic détectée et compteur de pente montante supérieur ou égal à 2 ou
 - Sigma de pente descendante supérieur à deux fois le sigma de fin de pic ou
 - Réinitialisation immédiate de la ligne de base ou
 - Réinitialisation de ligne de base à la vallée suivante et vallée de pic détectée
- t7** Le critère de pente descendante n'est plus respecté
- t8** Le critère de pente descendante est respecté à nouveau
- t9**
 - Vallée de pic détectée et compteur de pente montante supérieur ou égal à 2 ou
 - Compteur de pente descendante égal à zéro ou
 - Sigma de pente descendante supérieur au sigma de fin de pic ou
 - Réinitialisation immédiate de la ligne de base ou
 - Réinitialisation de la ligne de base à la vallée suivante
- t10** Le compteur de pente montante est supérieur ou égal à 2
- t11** Le compteur de pente montante est inférieur ou égal à 1

Début du pic

Dans le [Tableau 8](#) la largeur du pic attendu détermine quelles valeurs de pente et de courbure de filtre sont comparées au seuil. Par exemple, quand la largeur de pic attendue est faible, ce sont les nombres du filtre 1 qui sont ajoutés à l'accumulateur de pente montante. Si la largeur de pic attendue augmente, ce sont les nombres du filtre 2 et finalement ceux du filtre 3 qui sont utilisés.

Quand la valeur de l'accumulateur de pente montante est ≥ 15 , l'algorithme reconnaît la possibilité de début d'un pic.

Tableau 8 Valeurs incrémentales de l'accumulateur de pente montante

Filtre de dérivée 1 - 3 Sorties en fonction du seuil de sensibilité de pente	Filtre 1	Filtre 2	Filtre 3
Pente > Seuil	+8	+5	+3
Courbure > Seuil	+0	+2	+1
Pente < (-) Seuil	-8	-5	-3
Pente > Seuil	-4	-2	-1
Courbure < (-) Seuil	-0	-2	-1

Fin du pic

Dans le [Tableau 9](#) la largeur du pic attendu détermine quelles valeurs de pente et de courbure de filtre sont comparées au seuil. Par exemple, quand la largeur de pic attendue est faible, les nombres du filtre 1 sont ajoutés à l'accumulateur de pente descendante. Si la largeur de pic attendue augmente, ce sont les nombres du filtre 2 et finalement ceux du filtre 3 qui sont utilisés.

Quand la valeur de l'accumulateur de pente descendante est ≥ 15 , l'algorithme reconnaît la possibilité de fin d'un pic.

Tableau 9 Valeurs incrémentales pour l'accumulateur de pente descendante

Filtre de dérivée 1 - 3 Sorties en fonction du seuil de sensibilité de pente	Filtre 1	Filtre 2	Filtre 3
Pente > Seuil	+8	+5	+3
Courbure > Seuil	+0	+2	+1
Pente < (-) Seuil	-11	-7	-4
Pente > Seuil	-28	-18	-11
Courbure < (-) Seuil	-0	-2	-1

L'algorithme de sommet du pic Le sommet du pic est reconnu comme le point le plus élevé du chromatogramme par construction d'une adaptation parabolique passant par les points de données les plus hauts.

Calculs non Gaussiens

Pics fusionnés

La fusion des pics apparaît quand un pic commence avant que la fin du précédent ait été détectée. La [Figure 9](#) illustre comment l'intégrateur gère les pics fusionnés.

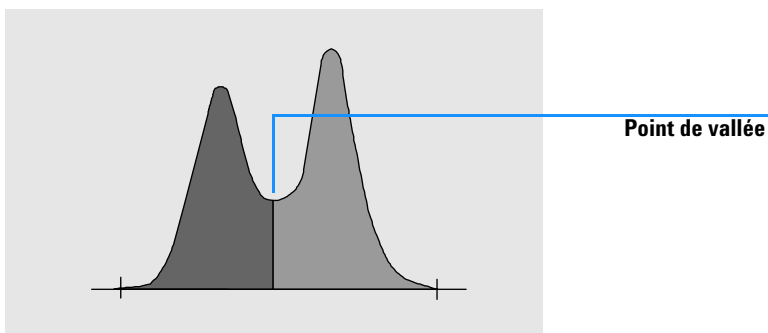


Figure 9 Pics fusionnés

L'intégrateur gère les pics fusionnés de la manière suivante :

- 1** il cumule l'aire du premier pic jusqu'au point de vallée.
- 2** au point de vallée, la sommation d'aires à partir du premier pic s'arrête et la sommation pour le second pic commence.
- 3** quand l'intégrateur trouve la fin du second pic, la sommation d'aires s'arrête. Ce processus peut être vu comme une séparation des pics fusionnés par une ligne perpendiculaire partant du point de vallée entre les deux pics.

Épaulements

Les épaulements sont des pics non résolus sur le front ou sur la traîne d'un pic plus grand. Il n'y a pas de vraie vallée dans le sens d'une pente négative suivie d'une pente positive. Un pic peut avoir un nombre quelconque d'épaulements avant et/ou arrière.

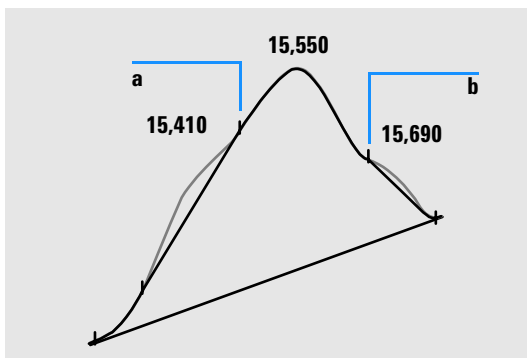


Figure 10 Épaulements de pic

Les épaulements sont détectés à partir de la courbure du pic, mesurée par la dérivée seconde. Quand la courbure passe par zéro, l'intégrateur identifie un point d'inflexion, tels que les points *a* et *b* de la Figure 10.

- Il existe un épaulement avant potentiel quand un second point d'inflexion est détecté avant le sommet du pic. Si un épaulement est confirmé, le début de l'épaulement est défini au point de courbure positive maximale avant le point d'inflexion.
- La détection d'un second point d'inflexion avant la fin du pic ou la vallée indique la possibilité d'un épaulement arrière. Si un épaulement est confirmé, le début de cet épaulement est défini au point cible à partir du point de départ sur la courbe.

Le temps de rétention/migration est déterminé à partir du point de courbure négative maximum de l'épaulement. Avec un événement d'intégration programmé, l'intégrateur peut aussi calculer les aires d'épaulement comme des pics normaux avec des lignes descendantes aux points d'inflexion du pic d'épaulement.

L'aire de l'épaulement est soustraite du pic principal.

Les épaulements du pic peuvent être traités comme des pics normaux à l'aide d'un événement chronoprogrammé de l'intégrateur.

Attribution de la ligne de base

Après la fin d'un groupe de pics et détection de la ligne de base, l'intégrateur demande à l'algorithme d'attribution de ligne de base d'attribuer la ligne de base par essais et erreurs. Il utilise des corrections d'aire trapézoïdale et des hauteurs proportionnelles afin de normaliser et de maintenir la ligne de base la plus basse possible. Les entrées dans l'algorithme d'allocation de la ligne de base incluent également des paramètres provenant des fichiers de méthodes et de données, identifiant le détecteur et l'application que l'intégrateur utilise pour optimiser ses calculs.

Construction de la ligne de base par défaut

Dans les cas les plus simples, l'intégrateur construit la ligne de base comme une suite de segments de droite entre :

- le début de la ligne de base,
- les graduations,
- la fin du pic.

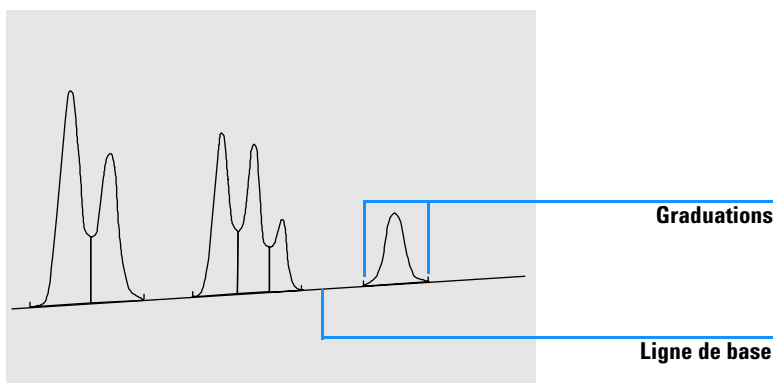


Figure 11 Construction de la ligne de base par défaut

Le début de la ligne de base

Si aucune ligne de base n'est détectée au début de l'analyse, le début de la ligne de base est défini d'une des manières suivantes :

- du début de l'analyse au premier point de ligne de base, si le point de début de l'analyse est plus bas que le premier point de la ligne de base,
- du début de l'analyse au premier point de vallée, si le point de début de l'analyse est plus bas que la première vallée,
- du début de l'analyse au premier point de vallée, si la première vallée pénètre une ligne imaginaire tracée du début de l'analyse à la première ligne de base,
- du début de l'analyse à une ligne de base horizontale prolongée depuis le premier point de la ligne de base.

Graduations

Les graduations identifient le début et la fin d'un pic. Leurs positions sont déterminées par les temps de début du pic et de fin du pic enregistrés dans la table des pics.

La fin de la ligne de base

Le dernier point validé de la ligne de base sert à désigner la fin de la ligne de base. Quand l'analyse ne se termine pas sur la ligne de base, la fin de la ligne de base est calculée à partir du dernier point de ligne de base valide jusqu'à la dérive connue de la ligne de base.

Si un pic se termine sur une vallée apparente mais que le pic suivant se trouve en dessous de la valeur de rejet d'aire définie, la ligne de base est projetée à partir du début du pic jusqu'au vrai point de ligne de base suivant. Si un pic débute de manière similaire, la même règle s'applique.

Pénétration de la ligne de base

Une pénétration est définie par une descente du signal en dessous de la ligne de base construite (point **a** sur la Figure 12). En cas de pénétration de la ligne de base, cette partie de ligne de base est généralement reconstruite comme pour le point **b** de la Figure 12.

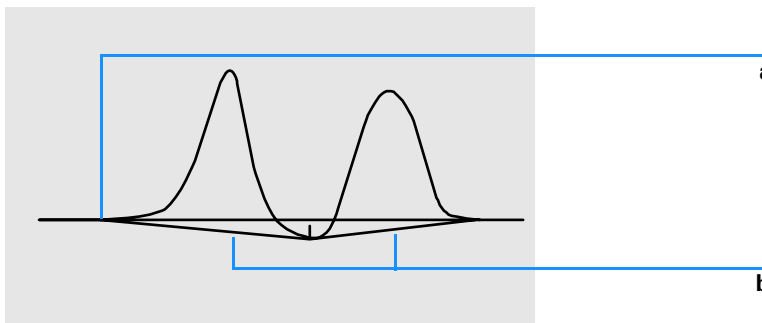


Figure 12 Pénétration de la ligne de base

Les options de suivi de la ligne de base suivantes permettent de supprimer les pénétrations de la ligne de base :

Classical Baseline Tracking (no penetration) [Suivi classique de la ligne de base (sans pénétration)]

Quand cette option est sélectionnée, une recherche de pénétration de la ligne de base est effectuée sur chaque groupe de pics. Si des pénétrations sont détectées, les points de début et/ou de fin du pic sont décalés jusqu'à éliminer toutes les pénétrations (comparez les lignes de base des Figure 13 et Figure 12).

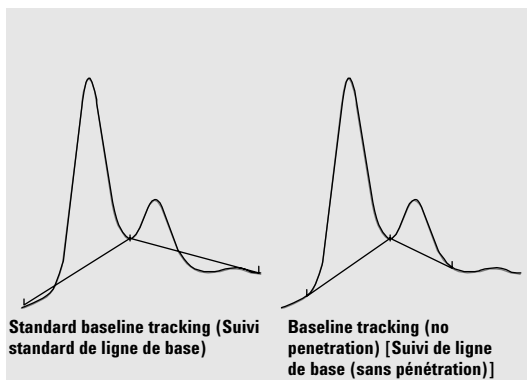


Figure 13 Suivi standard de ligne de base et suivi de ligne de base (sans pénétration)

REMARQUE

Le suivi de ligne de base (sans pénétration) n'est pas disponible pour les pics de solvant, accompagnés de leurs pics fils et épaulements.

Advanced Baseline Tracking (Suivi évolué de la ligne de base)

Dans le mode de suivi évolué de la ligne de base, l'intégrateur tente d'optimiser les emplacements de début et de fin de pics, il redéfinit la ligne de base pour un groupe de pics et supprime les pénétrations des lignes de base (voir "[Pénétration de la ligne de base](#)" à la page 99). Dans beaucoup de cas, le mode de suivi évolué de la ligne de base donne une ligne de base plus stable, moins dépendante du seuil de pente.

Peak Valley Ratio (Rapport pic vallée)

Ce paramètre utilisateur est un élément du mode de suivi évolué de la ligne de base. Il permet de décider si deux pics qui ne présentent pas de séparation de ligne de base sont séparés par une projection ou une ligne de base de vallée. L'intégrateur calcule le rapport entre la hauteur corrigée de la ligne de base du pic le plus petit et la hauteur corrigée de la ligne de base de la vallée. Quand le rapport pic vallée est inférieur à la valeur indiquée par l'utilisateur, c'est une projection qui est utilisée ; sinon, une ligne de base est tracée à partir de la

ligne de base au début du premier pic jusqu'à la vallée, puis depuis la vallée jusqu'à la ligne de base à la fin du deuxième pic (comparez la Figure 13 avec la Figure 14).

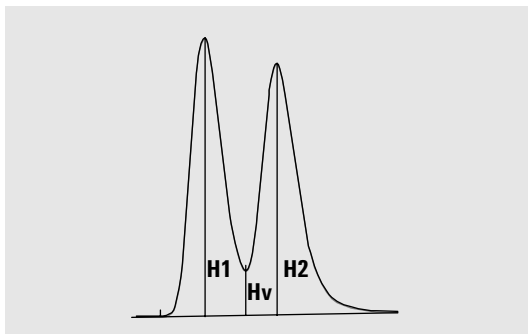


Figure 14 Rapport pic vallée

Le rapport pic vallée est calculé par les équations suivantes :

$$H1 \geq H2, \text{ Peak valley ratio} = H2/Hv$$

et

$$H1 < H2, \text{ Peak valley ratio} = H1/Hv$$

La Figure 15 montre comment la valeur du rapport pic vallée indiquée par l'utilisateur modifie les lignes de base.

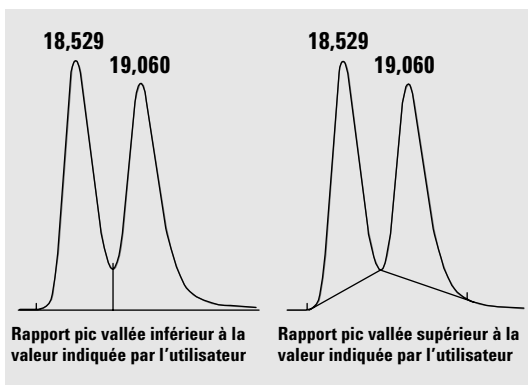


Figure 15 Effet du rapport pic vallée sur les lignes de base

Intégration tangentielle

L'intégration tangentielle est une forme de construction de ligne de base pour les pics détectés sur le front ou la traîne d'un autre pic. Quand l'intégration tangentielle est activée, quatre modèles permettent de calculer les aires des pics correspondants :

- adaptation de courbe exponentielle,
- nouvelle approximation exponentielle
- segment de droite tangent,
- combinaison d'exponentielles et de segments de droite pour une meilleure adaptation (tangente standard).

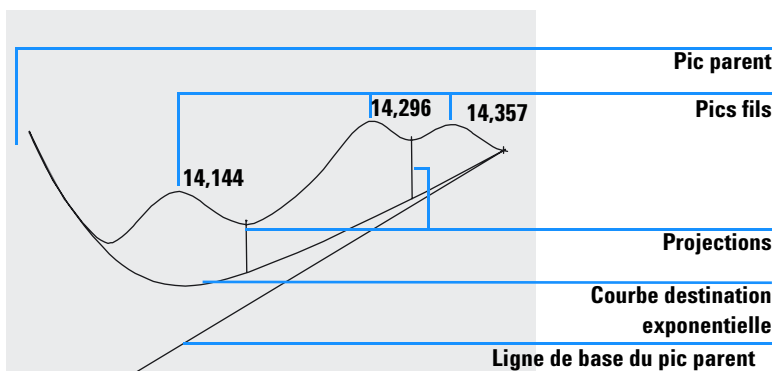


Figure 16 Approximation exponentielle nouveau mode

Adaptation de courbe exponentielle

Ce modèle d'intégration trace une courbe à l'aide d'une équation exponentielle passant par le début et la fin du pic fils (la hauteur du début du pic fils est corrigée de la pente du pic parent). La courbe passe sous chaque pic fils suivant le pic parent ; l'aire sous la courbe d'approximation est soustraite des pics fils et ajoutée au pic parent (voir [Figure 17](#)).

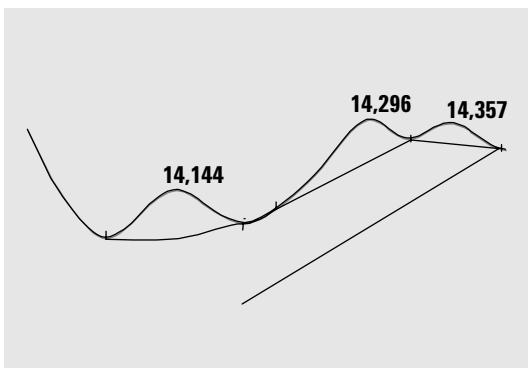


Figure 17 Approximation exponentielle

Segment de droite tangent

Ce modèle d'approximation trace un segment de droite du début à la fin d'un pic fils. La hauteur du début du pic fils est corrigée de la pente du pic parent. L'aire sous le segment de droite est soustraite du pic fils et ajoutée au pic parent (voir [Figure 18](#)).

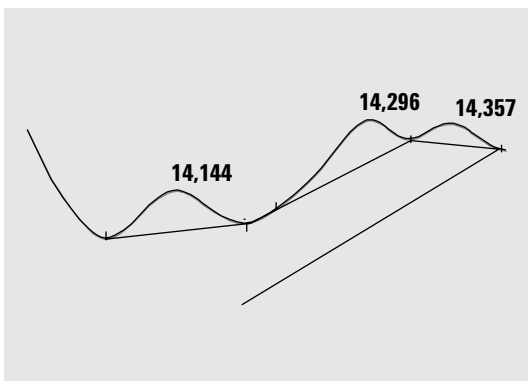


Figure 18 Segment de droite tangent

Approximations standards

Le calcul approprié est choisi en fonction de l'application ; par défaut, la méthode choisie est une combinaison de calculs exponentiels et de segments de droite permettant d'obtenir la meilleure adaptation.

Le passage du calcul exponentiel au calcul linéaire est effectué de manière à éviter toute discontinuité importante de hauteur ou d'aire.

- Quand le signal est nettement au-dessus de la ligne de base, le calcul d'ajustement de la traîne est exponentiel.
- Quand le signal se situe dans l'enveloppe de la ligne de base, le calcul d'ajustement de la traîne est une ligne droite.

Les calculs de combinaison sont signalés comme intégration exponentielle ou tangentielle.

Critères d'approximation

Deux critères déterminent l'utilisation d'une ligne d'approximation pour calculer l'aire d'un pic fils éluant sur la traîne d'un pic parent :

- rapport hauteur traîne
- rapport hauteur vallée

Ces critères ne sont pas utilisés si un événement programmé est actif pour une exponentielle, ou si le pic parent est lui-même un pic fils. Le code de séparation entre le pic parent et le pic fils doit être du type vallée.

Rapport hauteur traîne C'est le rapport de la hauteur corrigée de la ligne de base du pic parent (H_p sur la Figure 19) à la hauteur corrigée de la ligne de base du pic fils (H_c sur la Figure 19). Ce rapport doit être supérieur à la valeur indiquée pour que le pic fils soit intégré.

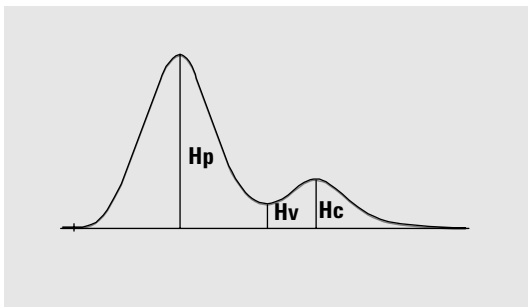


Figure 19 Critères d'intégration

Vous pouvez désactiver l'estimation exponentielle dans toute l'analyse en définissant la valeur du rapport hauteur traîne à une valeur très élevée, ou à zéro.

Rapport hauteur vallée C'est le rapport de la hauteur du pic fils au-dessus de la ligne de base (H_c sur la Figure 19) à la hauteur de la vallée au-dessus de la ligne de base (H_v sur la Figure 19). Ce rapport doit être inférieur à la valeur indiquée pour que le pic fils soit intégré.

Calcul d'adaptation de courbe exponentielle pour les estimations

L'équation ci-dessous permet de calculer une approximation exponentielle (voir Figure 20) :

$$H_b = H_o \times \exp(-B \times (Tr - To)) + A \times Tr + C$$

où :

H_b = hauteur de l'estimation exponentielle au temps Tr

H_o = hauteur (au-dessus de la ligne de base) du début de l'approximation exponentielle

B = facteur de décroissance de la fonction exponentielle

4 Intégration

Attribution de la ligne de base

T_0 = temps correspondant au début de l'approximation exponentielle

A = pente de la ligne de base du pic parent

C = ordonnée à l'origine de la ligne de base du pic parent

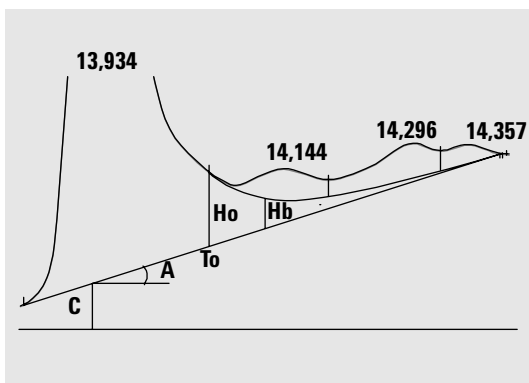


Figure 20 Valeurs utilisées pour calculer une approximation exponentielle

Le modèle exponentiel est adapté sur la partie de la traîne du pic parent située immédiatement avant le premier pic fils. La [Figure 21](#) montre la courbe corrigée d'un pic fils après intégration tangentielle

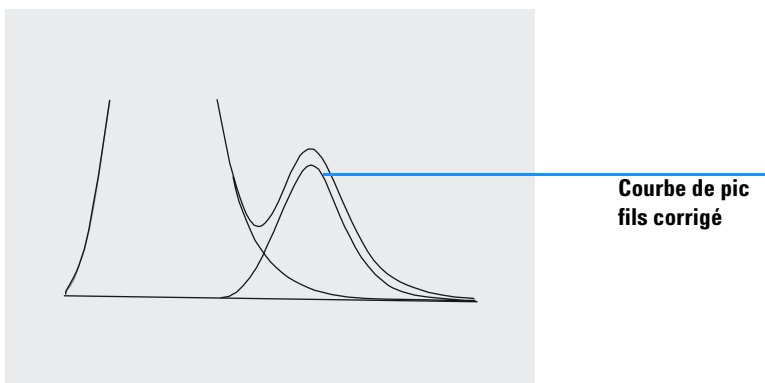


Figure 21 Pic fils corrigé de la traîne

Approximation de front de pic

Comme pour les pics fils sur la traîne d'un pic parent, une intégration spéciale est nécessaire pour certains pics situés sur le front ou la pente montante d'un pic, voir [Figure 22](#).



Figure 22 Approximation de front de pic

L'approximation de front de pic est traitée de la même façon que l'approximation de traîne, par les mêmes modèles d'approximation.

Les critères d'approximation sont :

- rapport hauteur front
- rapport hauteur vallée

Le rapport hauteur vallée a la même valeur pour l'approximation de front de pic que pour l'approximation de traîne (voir "[Rapport hauteur vallée](#)" à la page 105) ; le rapport hauteur front est calculé comme le rapport hauteur traîne (voir "[Rapport hauteur traîne](#)" à la page 105), mais peut avoir une valeur différente.

Pics non attribués

Pour certaines constructions de ligne de base, il y a des aires de faible valeur au-dessus de la ligne de base et en dessous du signal qui ne font partie d'aucun pic identifié. Ces aires ne sont normalement ni mesurées, ni intégrées dans les rapports. Si l'option “ unassigned peaks ” (Pics non attribués) est activée, ces aires sont mesurées et mentionnées dans le rapport comme étant des pics non attribués. Le temps de rétention/migration pour ces aires est le point milieu entre le début et la fin de l'aire, comme indiqué sur la [Figure 23](#) à la page 108.

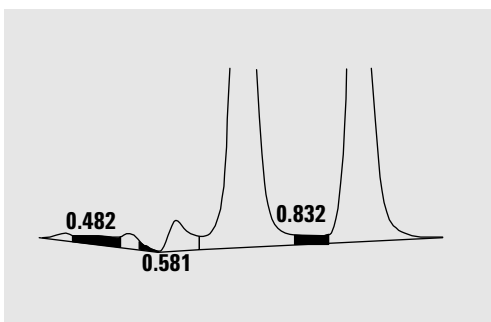


Figure 23 Pics non attribués

Codes de séparation des pics

Dans les rapports, chaque pic se voit attribuer un code à deux, trois ou quatre caractères décrivant le mode de tracé de la ligne de base.

Caractères 1 et 2

Le premier caractère indique la ligne de base du début du pic, le deuxième caractère décrit la ligne de base à la fin du pic.

- B** Le pic a commencé ou s'est arrêté sur la ligne de base.
- V** Le pic a commencé ou s'est arrêté par une ligne verticale de vallée.
- P** Le pic a commencé ou s'est arrêté pendant la pénétration de la ligne de base.
- H** Le pic a commencé ou s'est arrêté sur une ligne de base horizontale forcée.
- F** Le pic a commencé ou s'est arrêté sur un point forcé.
- M** Le pic a été intégré manuellement.
- U** Le pic n'était pas attribué.

D'autres indicateurs peuvent être ajoutés (en ordre de priorité) :

Caractère 3

- D** Pic déformé.
- A** Intégration abandonnée.
- U** Détection de limite inférieure de plage.
- O** Détection de limite supérieure de plage.

Caractère 4

Le quatrième caractère décrit le type du pic :

- S** Le pic est un pic de solvant.
- N** Le pic est négatif.
- +** Le pic est une sommation d'aires.
- T** Pic calculé par intégration tangentielle (approximation standard)
- X** Pic calculé par intégration tangentielle (approximation exponentielle ancien mode).
- E** Pic calculé par intégration tangentielle (approximation exponentielle nouveau mode).
- m** Pic défini par une ligne de base manuelle.
- n** Pic négatif défini par une ligne de base manuelle.
- t** Pic à intégration tangentielle défini par une ligne de base manuelle.
- R** Le pic est un pic de solvant recalculé.
- f** Pic défini par une tangente d'épaulement de front.
- b** Pic défini par une tangente d'épaulement de traîne.
- F** Pic défini par une projection verticale d'épaulement de front.
- B** Pic défini par une projection verticale d'épaulement de traîne.
- U** Pic non attribué.

Mesure de l'aire du pic

La dernière étape dans l'intégration du pic consiste à déterminer son aire finale.

Les aires de pic sont calculées à partir du contenu du fichier de points cardinaux. Les points cardinaux sont ceux choisis par l'intégrateur pour définir et quantifier un pic (voir "[Identification des points cardinaux d'un pic](#)" à la page 84). Ce sont les points de ligne de base, les points de vallée, le sommet du pic, les points à mi-hauteur du pic. Les points cardinaux ont une coordonnée horizontale de temps écoulé, une coordonnée verticale de hauteur à partir de la ligne de base, l'aire et d'autres paramètres que l'intégrateur utilise pour calculer les aires du pic.

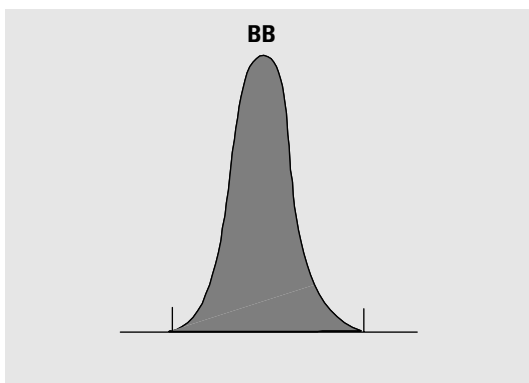


Figure 24 Mesure d'aire pour des pics de ligne de base à ligne de base

Dans le cas d'un pic simple isolé, l'aire du pic est déterminée par l'aire cumulée au-dessus de la ligne de base entre le début et la fin du pic (identifiée par des graduations).

Détermination de l'aire

L'aire que l'intégrateur calcule pendant l'intégration est déterminée de la manière suivante :

- pour des pics de ligne de base à ligne de base (BB), l'aire est au-dessus de la ligne de base entre les graduations, comme sur la [Figure 24](#) à la page 111,
- pour les pics de vallée à vallée (VV), l'aire au-dessus de la ligne de base est découpée au niveau des graduations selon des lignes verticales, comme sur la [Figure 25](#),

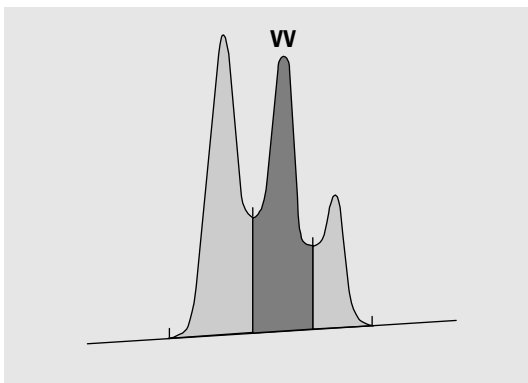


Figure 25 Mesure d'aire pour des pics de vallée à vallée

- pour les pics tangentiels (T), l'aire est au-dessus de la ligne de base réinitialisée,
- pour les pics de solvant (S), l'aire est au-dessus du prolongement horizontal du dernier point de ligne de base trouvé et sous la ligne de base réinitialisée attribuée aux pics tangentiels (T). Il arrive qu'un pic de solvant s'élève trop lentement pour être reconnu, ou que l'on rencontre en cours d'analyse un groupe de pics qui vous semble devoir être traité comme un pic de solvant avec ensemble de pics portés. Il s'agit généralement d'un groupe de pics mal résolus dont le premier est beaucoup plus grand que les autres. Le simple traitement par projection verticale exagérerait les autres pics, parce qu'ils se trouvent en réalité sur la traîne du premier. En forçant la reconnaissance du premier pic en tant que solvant, le reste du groupe est éliminé de la traîne,
- les pics négatifs (au-dessous de la ligne de base) ont une aire positive comme le montre la [Figure 26](#) à la page 113.

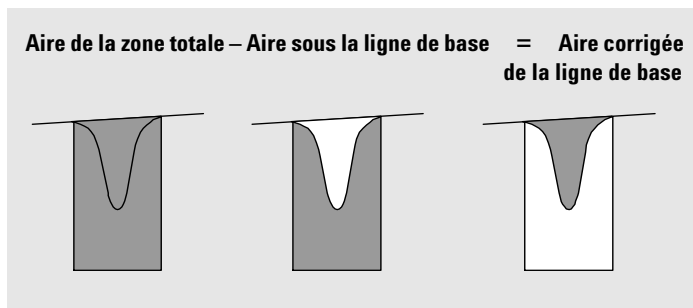


Figure 26 Mesure d'aire pour des pics négatifs

Unités et facteurs de conversion

Extérieurement, les données contiennent un ensemble de points de données, qui peuvent être issues d'un échantillonnage ou d'une intégration. Dans le cas des données intégrées, chaque point de données correspond à une aire, exprimée sous la forme $Height \times Time$. Pour les données échantillonnées, chaque point de données correspond à une hauteur.

Donc, pour les données intégrées, la hauteur est une entité calculée, obtenue par division de l'aire par le temps écoulé depuis le point de données précédent. Pour les données échantillonnées, l'aire est calculée par multiplication des données par le temps écoulé depuis le point de données précédent.

Le calcul d'intégration utilise les deux types d'entités. Les unités utilisées par l'intégrateur sont : $counts \times milliseconds$ pour l'aire et $counts$ pour la hauteur. Ceci permet d'assurer une base commune pour les troncatures d'entiers éventuellement nécessaires. Les mesures de temps, d'aire et de hauteur sont signalées en unités physiques réelles, quelles que soient leurs méthodes de mesure, de calcul et d'enregistrement dans le logiciel.

Événements d'intégration

L'intégrateur propose un certain nombre d'événements initiaux et programmés. De nombreux événements sont constitués par des paires actif (on)/inactif (off), de début (start)/fin (stop).

Événements initiaux

Initial(e) Largeur du pic	La largeur initiale de pic définit la largeur de pic interne pour l'intégrateur au début de l'analyse. La valeur de largeur du pic initiale est utilisée pour mettre à l'échelle l'accumulateur qui détecte la pente montante, la pente descendante et la traîne du pic. L'intégrateur met à jour la largeur du pic si nécessaire pendant l'analyse pour optimiser l'intégration. Vous pouvez indiquer la largeur de pic en unités de temps, c'est la largeur à mi-hauteur du premier pic attendu (en excluant le pic de solvant).
Pente Seuil	Le seuil ou sensibilité de pente est un réglage de sensibilité de détection de pic. Il est modifiable sur une échelle linéaire.
Hauteur de rejet	Le rejet d'aire détermine le rejet de pics en fonction de leur hauteur finale. Les pics de hauteur inférieure à la hauteur minimale ne sont pas inclus dans les calculs.
Rejet d'aire	Le rejet d'aire définit le rejet des pics en fonction de leur aire finale. Tous les pics dont les aires sont inférieures à l'aire minimale ne seront pas rapportés.
Épaulement détection	Quand la détection d'épaulement est activée, l'intégrateur détecte les épaulements en utilisant la courbure du pic donnée par la dérivée seconde. Quand la courbure atteint zéro, l'intégrateur identifie ce point d'inflexion comme un épaulement possible. Si l'intégrateur identifie un autre point d'inflexion avant le sommet du pic, un épaulement a été détecté.

Largeur du pic

La valeur de largeur du pic contrôle la sélectivité de l'intégrateur pour distinguer les pics du bruit de la ligne de base. Pour obtenir de bonnes performances, définissez la largeur de pic proche de la largeur à mi-hauteur des pics chromatographiques/électrophorographique réels. L'intégrateur met à jour la largeur du pic si nécessaire pendant l'analyse pour optimiser l'intégration.

Choix de la largeur de pic

Choisissez la valeur qui fournit juste assez de filtrage pour empêcher que le bruit ne soit interprété comme des pics, sans déformer l'information du signal.

- Pour choisir une largeur de pic initiale appropriée pour un pic intéressant unique, utilisez l'étendue temporelle de pic comme base de référence.
- Pour choisir une largeur de pic initiale appropriée lorsqu'il y a plusieurs pics intéressants, définissez la largeur de pic initiale à une valeur égale ou inférieure à la largeur du pic le plus étroit, pour obtenir une sélectivité de pic optimale.

Si la largeur du pic initiale sélectionnée est trop basse, le bruit risque d'être interprété comme des pics. Si des pics larges et étroits sont mélangés, vous pouvez décider d'utiliser des événements programmés à l'exécution pour ajuster la largeur de certains pics. Parfois, les pics peuvent s'élargir de façon importante au fur et à mesure de l'analyse, par exemple pour des analyses en CPG isotherme ou CPL isocratique. Pour compenser cela, l'intégrateur met à jour automatiquement la largeur de pic au fur et à mesure que les pics s'élargissent pendant une analyse, sauf si celle-ci est désactivée ou définie avec un événement programmé.

La mise à jour de la largeur de pic est pondérée de la manière suivante :

$$0.75 \times (\text{existing peak width}) + 0.25 \times (\text{width of current peak})$$

Si un événement d'intégration programmé désactive ou définit la largeur du pic à une valeur particulière, l'ajustement automatique de la largeur du pic est désactivé.

Rejet de hauteur et de largeur de pic

La largeur de pic et le rejet de hauteur jouent tous deux un grand rôle dans le processus d'intégration. En changeant leurs valeurs, vous obtiendrez des résultats différents.

- Augmentez le rejet de hauteur et la largeur de pic lorsque des composants relativement dominants doivent être détectés et quantifiés dans un environnement très bruyant. Une largeur de pic accrue augmente le filtrage du bruit et un rejet de hauteur accru permet d'ignorer le bruit aléatoire.
- Diminuez le rejet de hauteur et la largeur de pic pour détecter et quantifier des composants traces, ceux dont les hauteurs approchent celles du bruit lui-même. En diminuant la largeur de pic, vous diminuez le filtrage des signaux, tandis qu'en diminuant le rejet de hauteur, vous vous assurez que les petits pics ne seront pas rejetés pour cause de hauteur insuffisante.

Quand une analyse contient des pics de largeurs différentes, définissez la largeur de pic en fonction des pics les plus étroits et réduisez le rejet de hauteur pour éviter que les pics les plus larges soient ignorés à cause de leur hauteur réduite.

Optimisation de l'intégration

Il est souvent utile de changer les valeurs des seuils, largeur de pic, rejet de hauteur et rejet d'aire pour personnaliser l'intégration.

La [Figure 27](#) montre comment ces paramètres influencent l'intégration de cinq pics dans un signal.

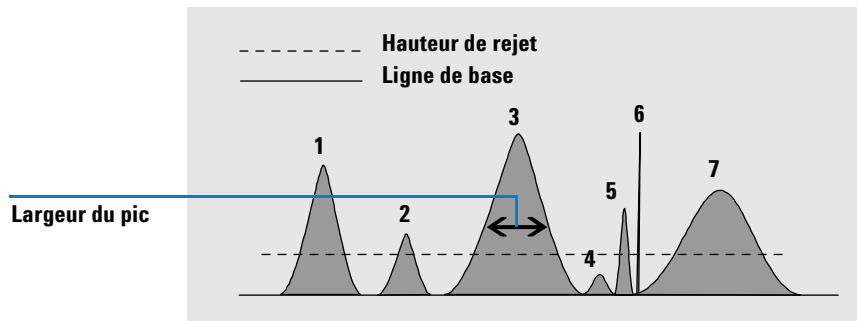


Figure 27 Utilisation d'événements initiaux

Un pic n'est intégré que quand les quatre critères sur les paramètres d'intégration sont conformes. En utilisant la largeur de pic pour le pic 3, le rejet d'aire et le seuil présentés sur la [Figure 27](#), seuls les pics 1, 3, 5 et 7 sont intégrés.

- Le pic 1** est intégré car les quatre événements d'intégration sont conformes.
- Le pic 2** est rejeté parce que l'aire se situe au-dessous de la valeur de rejet d'aire définie.
- Le pic 3** est intégré car les quatre événements d'intégration sont conformes.
- Le pic 4** n'est pas intégré parce que la hauteur du pic est au-dessous du rejet de hauteur.
- Le pic 5** est rejeté parce que l'aire se situe au-dessous de la valeur de rejet d'aire définie.
- Le pic 6** n'est pas intégré ; le filtrage et le regroupement rendent ce pic invisible.
- Le pic 7** est intégré.

Tableau 10 Valeurs de rejet de hauteur et d'aire

Paramètre d'intégration	Le pic 1	Le pic 2	Le pic 3	Le pic 4	Le pic 5	Le pic 7
Hauteur de rejet	Dessus	Dessus	Dessus	Dessous	Dessus	Dessus
Rejet d'aire	Dessus	Dessous	Dessus	Dessous	Dessous	Dessus
Pic intégré	Oui	Non	Oui	Non	Non	Oui

Événements chronoprogrammés

Vous pouvez utiliser des événements chronoprogrammés pour personnaliser la construction de la ligne de base du signal lorsque la construction par défaut ne convient pas. Ces événements peuvent être utiles pour l'addition des aires de pics et pour corriger des aberrations de la ligne de base à court et à long terme. Pour plus d'informations sur les événements d'intégration, voir ["Événements d'intégration"](#) à la page 114.

Auto-intégration

Description générale

La fonction d'auto-intégration est un point de départ pour la définition d'événements initiaux. C'est en particulier utile lors de la mise en place d'une méthode nouvelle. Vous pouvez commencer par une table d'événements d'intégration par défaut ne contenant aucun événement programmé ; vous pourrez ensuite optimiser les paramètres proposés par la fonction d'auto-intégration pour utilisation générale.

Principes de fonctionnement

La fonction d'auto-intégration lit les données du chromatogramme et calcule les valeurs optimales des paramètres d'intégration initiaux pour chaque signal de l'objet chromatogramme.

L'algorithme examine 1% au début et à la fin du chromatogramme pour déterminer le bruit et la pente de cette partie. Le bruit est calculé comme 3 fois l'écart type de la régression linéaire divisé par la racine carré du nombre de points en pourcentage utilisés dans la régression. Ces valeurs sont utilisées pour attribuer des valeurs appropriées au rejet de hauteur et à la sensibilité de pente pour l'intégration. L'algorithme attribue ensuite une valeur temporaire à la largeur de pic, en fonction de la longueur du chromatogramme, le plus souvent 0,5% en CPL et 0,3% à 0,2% en CPG. La valeur initiale de rejet d'aire est définie à zéro et une intégration d'essai est effectuée. L'essai est répété plusieurs fois si nécessaire, en modifiant les paramètres à chaque fois jusqu'à ce qu'au moins 5 pics soient détectés ou qu'une intégration soit effectuée avec un rejet de hauteur initiale de 0. L'intégration d'essai se termine si les conditions ci-dessous ne sont pas atteintes après 10 essais.

Les résultats de l'intégration sont examinés et la largeur de pic ajustée en fonction des largeurs des pics détectés, ce qui décale le calcul vers les pics initiaux. La symétrie des pics détectés est utilisée pour n'inclure que les pics dont la symétrie est comprise entre 0,8 et 1,3 pour le calcul de largeur de pic. S'il n'est pas possible de détecter suffisamment de pics symétriques, cette limite est étendue à $\text{minSymmetry}/1.5$ et $\text{maxSymmetry} \times 1.5$. La ligne de base entre les pics est ensuite examinée pour optimiser les valeurs précédentes de rejet de hauteur et de sensibilité de pente. Le rejet d'aire est défini à 90% de l'aire minimale du pic le plus symétrique détecté pendant l'intégration d'essais.

Le chromatogramme est réintégré avec ces valeurs finales des paramètres d'intégration, les résultats de l'intégration sont alors enregistrés.

Paramètres d'auto-intégration

Les paramètres ci-dessous sont définis par la fonction d'auto-intégration :

- Sensibilité de pente initiale.
- Hauteur initiale.
- Largeur initiale du pic.
- Rejet d'aire initiale.

Intégration manuelle

Description générale

Ce type d'intégration permet d'intégrer certains pics ou groupes de pics. Sauf pour la valeur initiale de rejet d'aire, les événements d'intégration du logiciel sont ignorés dans la plage indiquée d'intégration manuelle. Si un ou plusieurs des pics résultant de l'intégration manuelle se trouvent en dessous du seuil de rejet d'aire, ils sont ignorés. Les événements d'intégration manuelle utilisent des valeurs de temps absolues. Ils ne s'ajustent pas pour tenir compte de la dérive du signal.

L'intégration manuelle vous permet de définir les points de début et de fin du pic, puis d'inclure les aires recalculées dans les modules de quantification et de rapport. Les pics intégrés manuellement sont signalés dans les rapports par le code de séparation de pics M.

L'intégration manuelle offre les fonctions suivantes :

Tracé de ligne de base	Spécifie quand les lignes de base doivent être tracées pour un pic ou un ensemble de pics. Vous pouvez aussi spécifier si les pics dans la plage donnée doivent être automatiquement séparés à tous les points de vallée.
Negative Peaks (Pics négatifs)	Spécifie quand il faut traiter toutes les aires au-dessous de la ligne de base en tant que pics négatifs. Vous pouvez aussi spécifier si les pics dans la plage donnée doivent être automatiquement séparés à tous les points de vallée.
Tangent skim (Intégration tangentielle)	Calcule les aires de pics soustraites d'un pic principal par l'intégration tangentielle. L'aire du pic soumis à l'intégration tangentielle est soustraite de l'aire du pic principal.
Split Peak (Pic dédoublé)	Spécifie un point où il faut diviser un pic par une ligne verticale.
Delete Peak(s) [Supprimer le(s) pic(s)]	Supprime un ou plusieurs pics des résultats d'intégration.

Codes de séparation de pics pour les pics intégrés manuellement

Les pics intégrés manuellement sont étiquetés dans les rapports d'intégration par le code de pic MM.

S'il existe un pic avant le pic intégré manuellement, et que la fin de ce pic soit modifiée par l'intégration manuelle, il reçoit le code F (forcé).

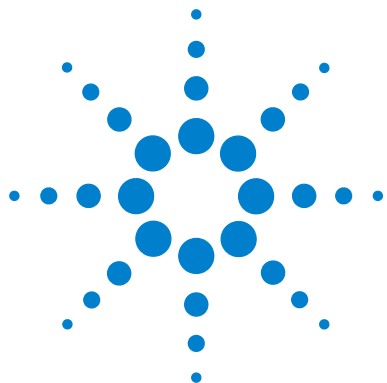
Un pic de solvant affecté par une intégration manuelle, par exemple une intégration tangentielle, est étiqueté R (solvant recalculé).

Documentation des événements d'intégration manuelle

Les résultats générés après application des événements d'intégration manuelle sont enregistrés et un journal d'audit des opérations d'intégration manuelle est créé. Les événements d'intégration manuelle sont indiqués avec des valeurs absolues de temps de rétention/migration et de hauteur, ils sont donc spécifiques du chromatogramme. En conséquence, le système n'applique pas automatiquement les événements d'intégration manuelle aux autres chromatogrammes.

4 **Intégration**

Intégration manuelle



5 Quantification

Qu'est-ce que la quantification ?	124
Calculs de quantification	125
Facteurs de correction	126
Facteur de réponse absolu	126
Multiplicateur	126
Facteur de dilution	126
Quantité d'échantillon	127
Procédures de calculs non étalonnés	128
Aire% et Hauteur%	128
Procédures de calculs étalonnés	129
Calcul ESTD	130
Calcul Norm%	132
Calcul ISTD	133
Analyse 1 : Etalonnage	134
Analyse 2 : Echantillon inconnu	135
Calcul ISTD des pics étalonnés	135
Calcul ISTD des pics non étalonnés	136



Qu'est-ce que la quantification ?

Une fois les pics intégrés et identifiés, l'étape suivante dans l'analyse est la quantification. Celle-ci utilise l'aire ou la hauteur des pics pour déterminer la concentration d'un composé dans un échantillon.

Une analyse quantitative comporte de nombreuses étapes, brièvement résumées ci-après :

- Connaître le composé que vous êtes en train d'analyser.
- Etablir une méthode pour analyser des échantillons contenant ce composé.
- Analyser un ou plusieurs échantillons contenant une ou plusieurs concentrations connues du composé, pour obtenir la réponse qui convient à cette concentration.

Vous pouvez aussi analyser un certain nombre de ces échantillons avec différentes concentrations des composés concernés, si votre détecteur a une réponse non linéaire. Ce processus est appelé *étalonnage multipoints*.

- Analyser l'échantillon contenant une concentration du composé, pour obtenir la réponse en rapport avec la concentration inconnue.
- Comparer la réponse de la concentration inconnue à celle de la concentration connue, pour déterminer la quantité de composé présente.

Pour que la comparaison entre la réponse de l'échantillon inconnu et celle de l'échantillon connu soit valide, il faut acquérir et traiter les données dans des conditions identiques.

Calculs de quantification

Pour déterminer la concentration de chaque composé présent dans un mélange, la ChemStation propose les procédures de calcul suivantes :

- Pourcentage
- Normalisation
- Etalon externe (ESTD)
- ESTD%
- Etalon interne (ISTD)
- ISTD%

Les calculs utilisés pour déterminer la concentration d'un composé dans un échantillon inconnu dépendent du type de quantification. Chaque procédure de calcul utilise l'aire ou la hauteur des pics pour le calcul et produit un type de rapport différent.

Facteurs de correction

Les calculs de quantification utilisent quatre facteurs de correction : le *facteur de réponse absolu*, le *multiplicateur*, le *facteur de dilution*, et la *quantité d'échantillon*. Dans les procédures d'étalonnage, ces facteurs servent à compenser les écarts de réponse du détecteur à différents composés d'échantillon, concentrations, dilutions d'échantillon, quantités d'échantillon, et pour convertir les unités.

Facteur de réponse absolu

Le facteur de réponse absolu pour un composé correspond à la quantité du composé divisée par l'aire ou la hauteur mesurée du pic du composé dans l'analyse d'un mélange étalon. Le facteur de réponse absolu, utilisé par chaque procédure de calcul étalonnée, corrige la réponse du détecteur à des composés individuels.

Multiplicateur

Le multiplicateur est utilisé dans chaque formule de calcul pour multiplier le résultat pour chaque composé. Il peut servir à convertir des unités en quantités spécifiques.

Facteur de dilution

Le facteur de dilution est un nombre par lequel tous les résultats calculés sont multipliés avant d'imprimer le rapport. Vous pouvez ainsi changer l'échelle des résultats ou corriger pour tenir compte de changements dans la composition de l'échantillon pendant le travail de pré-analyse. Vous pouvez aussi utiliser le facteur de dilution chaque fois qu'un facteur constant est nécessaire.

Quantité d'échantillon

Si les calculs ESTD% ou ISTD% sont sélectionnés, les rapports ESTD et ISTD donnent des valeurs relatives plutôt que des valeurs absolues, autrement dit, la quantité de chaque composé est exprimée en pourcentage de la quantité de l'échantillon. La quantité d'échantillon est utilisée dans les rapports ESTD% et ISTD% pour convertir la quantité absolue de chaque composé analysé en quantité relative en divisant par la valeur spécifiée.

Procédures de calculs non étalonnés

Les procédures de calculs non étalonnés ne demandent pas de tableau d'étalonnage.

Aire% et Hauteur%

La procédure de calcul Aire% donne l'aire de chaque pic dans l'analyse en pourcentage de l'aire totale de tous les pics inclus. Aire% ne nécessite pas d'étalonnage préalable et ne dépend pas de la quantité d'échantillon injectée dans les limites du détecteur. Aucun facteur de réponse n'est utilisé. Si tous les composés répondent de manière égale dans le détecteur et sont élués, Aire% donne une approximation valable des quantités relatives de composés.

Aire% est utilisé chaque fois que des résultats qualitatifs sont intéressants et pour produire des informations destinées à créer le tableau d'étalonnage qui servira à d'autres procédures d'étalonnage.

La procédure de calcul Hauteur% donne la hauteur de chaque pic dans l'analyse, en pourcentage de la hauteur totale de tous les pics présents.

Procédures de calculs étalonnés

Les procédures de calcul Etalon externe (ESTD), Normalisation, et Etalon interne (ISTD) nécessitent toutes des facteurs de réponse et, par conséquent, utilisent un tableau d'étalonnage. Ce dernier spécifie la conversion des réponses en unités de votre choix, par la procédure que vous sélectionnez.

Calcul ESTD

La procédure ESTD est la procédure de quantification de base dans laquelle les échantillons d'étalonnage et les échantillons inconnus sont analysés dans les mêmes conditions. Les résultats des deux types d'échantillons sont comparés afin de calculer la quantité dans l'inconnu.

Contrairement à la procédure ISTD, la procédure ESTD utilise des facteurs de réponse absolus. Ces derniers sont obtenus à partir d'un étalonnage, puis stockés. Dans les analyses d'échantillons suivantes, les quantités de composé sont calculées en appliquant ces facteurs de réponse aux quantités d'échantillon mesurées. Ce type de calcul suppose une précaution : il faut que la taille de l'échantillon soit reproductible d'une analyse à l'autre, car aucun étalon dans l'échantillon ne permet de corriger les écarts dans l'injection ou la préparation de l'échantillon.

Lors de la préparation d'un ESTD, le calcul de la quantité d'un composé particulier dans un échantillon inconnu s'effectue en deux étapes :

- 1 On calcule une équation pour la courbe passant par les points d'étalonnage pour ce composé en utilisant le type d'ajustement spécifié dans la boîte de dialogue "Calibration Settings" ou "Calibration Curve".
- 2 On calcule la quantité de composé dans l'inconnu en utilisant l'équation décrite ci-après. Cette quantité peut figurer dans le rapport ou peut être utilisée dans les calculs supplémentaires demandés par les valeurs Multiplicateur, Facteur de dilution, ou Quantité d'échantillon, avant de figurer dans le rapport.

Si le rapport ESTD est sélectionné, l'équation servant à calculer la quantité absolue du composé x est la suivante :

$$\text{Absolute Amt of x} = \text{Response}_x \cdot RF_x \cdot M \cdot D$$

avec :

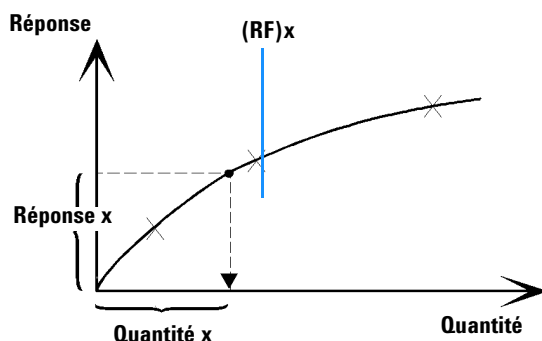
Réponse_x est la réponse du pic x ;

RF_x est le facteur de réponse du composé x, calculé ainsi :

$$RF_x = \frac{\text{Amount}_x}{\text{Response}_x}$$

M est le multiplicateur.

D est le facteur de dilution.



Le multiplicateur et le facteur de dilution sont lus dans la boîte de dialogue **Calibration Settings** ou **Sample Information**.

Si le rapport ESTD% est sélectionné et si la quantité d'échantillon est autre que zéro, la quantité relative (%) d'un composé x est calculée ainsi :

$$\text{Relative Amt of } x = \frac{(\text{Absolute Amt of } x) \cdot 100}{\text{Sample Amount}}$$

avec :

Quantité absolue de x est calculée comme ci-dessus dans le calcul ESTD ;

Quantité échantillon est obtenue à partir de la boîte Sample Information, ou à partir de la boîte de dialogue Calibration Settings pour des analyses uniques. Si la quantité d'échantillon est de zéro, le ESTD est calculé.

Calcul Norm%

Dans la méthode de normalisation, des facteurs de réponse sont appliqués aux aires (ou hauteurs) des pics, pour compenser les changements de sensibilité du détecteur pour les différents composés d'échantillon.

Le rapport Norm% est calculé de la même manière qu'un rapport ESTD, mais avec une étape supplémentaire pour calculer les quantités relatives plutôt qu'absolues des composés.

Le rapport Norm% présente le même inconvénient que les rapports Aire% et Hauteur%. Tout changement affectant l'aire totale du pic affectera le calcul de concentration de chaque pic individuel. Il ne faut utiliser le rapport de normalisation que si tous les composés concernés font l'objet d'une élution et intégration. L'exclusion de certains pics d'un rapport de normalisation changera les résultats rapportés dans l'échantillon.

L'équation utilisée pour calculer le Norm% d'un composé x est la suivante :

$$\text{Norm\% of } x = \frac{\text{Response}_x \cdot RF_x \cdot 100 \cdot M \cdot D}{\sum (\text{Response} \cdot RF)}$$

avec :

Réponse_x est l'aire (ou hauteur) du pic x ;

RF_x est le facteur de réponse ;

$\sum (\text{Response} \cdot RF)$ est le total de tous les produits $(\text{RESPONSE})(RF)$ pour tous les pics, y compris le pic x ;

M est le multiplicateur ;

D est le facteur de dilution.

Le multiplicateur et le facteur de dilution sont lus dans la boîte de dialogue **Calibration Settings** ou **Sample Information**.

Calcul ISTD

La procédure ISTD élimine les inconvénients de la méthode ESTD en utilisant un composé ajouté en quantité connue pour servir de facteur de normalisation. Ce composé, l'*étalon interne*, est ajouté aux échantillons d'étalonnage et aux échantillons inconnus.

Le logiciel prend les facteurs de réponse appropriés tirés d'un étalonnage précédent stocké dans la méthode. En utilisant la concentration d'étalon interne et les aires ou hauteurs de pics provenant de l'analyse, le logiciel calcule les concentrations de composé.

Le composé utilisé comme étalon interne doit être semblable aux composés étalonnés, tant sur le plan chimique que sur le plan du temps de rétention/migration, mais il faut pouvoir le distinguer aux niveaux chromatographique.

Tableau 11 Procédure ISTD

Avantages	Inconvénients
L'écart de taille de l'échantillon n'est pas critique.	Il faut ajouter l'étalon interne à chaque échantillon.
La dérive de l'instrument est compensée par l'étalon interne.	
Les effets des préparations d'échantillon sont minimisés si le comportement chimique de l'ISTD et de l'inconnu sont similaires.	

Si la procédure ISTD est utilisée pour des étalonnages avec une caractéristique non linéaire, il faut veiller à ce que les erreurs résultant du principe de calcul ne génèrent pas des erreurs systématiques. Dans des étalonnages multipoints, la quantité de composé ISTD doit demeurer constante, c'est-à-dire la même pour tous les points si la courbe d'étalonnage du composé est non linéaire.

Dans l'analyse d'étalon interne, la quantité du composé concerné est rapportée à la quantité du composé d'étalon interne par le rapport des réponses des deux pics.

Dans un étalonnage ISTD à deux analyses, le calcul du rapport de quantité corrigée d'un composé particulier dans un échantillon inconnu s'effectue en deux étapes :

Analyse 1 : Etalonnage

- 1 Les points sont construits en calculant un rapport de quantité et un rapport de réponse pour chaque niveau d'un pic particulier dans le tableau d'étalonnage.

Le rapport de quantité est la quantité du composé divisée par la quantité de l'étalon interne à ce niveau.

Le rapport de réponse est l'aire du composé divisée par l'aire ou la hauteur de l'étalon interne à ce niveau.

- 2 Une équation pour la courbe passant par les points d'étalonnage est calculée en utilisant le type d'ajustement de courbe spécifié dans la boîte de dialogue "Calibration Settings" ou "Calibration Curve".

$$RF_x = \frac{\text{Amount Ratio}}{\text{Response Ratio}}$$

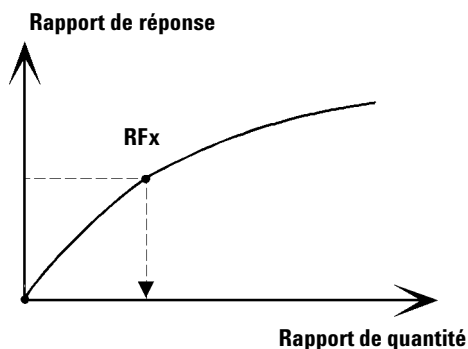


Figure 28 Rapport de quantité

Analyse 2 : Echantillon inconnu

- 1 Dans l'échantillon inconnu, la réponse du composé est divisée par la réponse de l'étalon interne, pour donner un rapport de réponse pour l'inconnu.
- 2 Un rapport de quantité pour l'inconnu est calculé en utilisant l'équation d'ajustement de courbe déterminée dans l'étape 2 ci-dessus, et la quantité réelle de l'ISTD dans l'échantillon.

Calcul ISTD des pics étalonnés

Les équations utilisées pour calculer la quantité réelle d'un composé étalonné x pour un étalonnage à niveau unique, sont les suivantes :

$$\text{Response Ratio} = \frac{\text{Response}_x}{\text{Response}_{\text{ISTD}}}$$

$$\text{Actual Amt of } x = (\text{Response Ratio} \cdot \text{RF}_x) \cdot (\text{Actual Amount of ISTD}) \cdot M \cdot D$$

avec :

RF_x est le facteur de réponse pour le composé x ;

La quantité réelle (*Qté réelle*) d'ISTD est la valeur introduite dans la boîte de dialogue "Calibration Settings" ou "Sample Info" pour l'étalon interne ajouté à l'échantillon inconnu ;

M est le multiplicateur.

D est le facteur de dilution.

Si le type de rapport ISTD% est sélectionné, l'équation suivante est utilisée pour calculer la quantité relative (%) du composé x :

$$\text{Relative Amt of } x = \frac{(\text{Actual Amount of } x) \cdot 100}{\text{Sample Amount}}$$

Calcul ISTD des pics non étalonnés

Il existe deux manières pour définir le facteur de réponse utilisé pour calculer la quantité pour les pics non identifiés.

- 1 Utiliser le facteur de réponse fixe défini dans la boîte "With Rsp Factor" de la boîte de dialogue "Calibration Settings". Vous pouvez choisir de corriger le facteur de réponse fixe en spécifiant une correction ISTD.

$$\text{Actual Amount of } x = \text{RF}_x \cdot (\text{Response Ratio})_x \cdot \text{Actual Amount of ISTD} \cdot M \cdot D$$

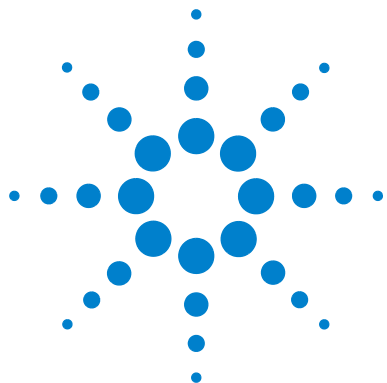
$$\text{Response Ratio} = \frac{\text{Response}_x}{\text{Response}_{\text{ISTD}}}$$

rRF_x est le facteur de réponse défini dans la boîte de dialogue **Calibration Settings**.

Vous pouvez voir, d'après ces formules, que les écarts dans la réponse ISTD sont utilisés pour corriger la quantification du composé inconnu.

- 2 Utiliser un pic étalonné. Cette méthode garantit l'utilisation du même facteur de réponse pour la quantification de tous les pics. Le facteur de réponse du composé sélectionné et des pics non étalonnés est corrigé à chaque ré-étalonnage. Si le facteur de réponse des pics étalonnés change, le facteur de réponse pour les pics non identifiés change aussi de la même quantité. Si un tableau d'étalonnage est déjà établi, vous pouvez sélectionner un composé provenant de la "combo box" Using Compound dans la boîte de dialogue Calibration Settings.

Les équations utilisées pour calculer la quantité réelle d'un pic x non étalonné se trouvent ci-dessus.



6 Identification des pics

Qu'est ce que l'identification des pics ?	138
Règles de correspondance des pics	139
Types d'identification des pics	140
Temps de rétention/migration absolu	140
Temps de rétention/migration corrigé	140
Qualificateurs des pics	145
Limites de quantité	140
Temps de rétention/migration absolu	141
Temps de rétention/migration corrigés	143
Pics de référence uniques	143
Pics de référence multiples	144
Qualificateurs des pics	145
La corrélation de signal	146
Vérification du qualificateur	146
Calcul du rapport de qualification	147
Le processus d'identification	148
Trouver les pics de référence	148
Trouver les pics ISTD	148
Trouver les pics étalonnés restants	149
Classification des pics non identifiés	149



Qu'est ce que l'identification des pics ?

L'identification des pics consiste à identifier les composants d'un échantillon inconnu en se basant sur leurs caractéristiques chromatographiques/électrophorographique, déterminées par l'analyse d'un étalon bien défini.

Si la méthode analytique nécessite une identification, il est obligatoire d'identifier ces composants. Les caractéristiques de signal de chaque composant concerné sont stockées dans le tableau d'étalonnage de la méthode.

L'identification consiste à comparer chaque pic du signal avec ceux du tableau d'étalonnage.

Le tableau d'étalonnage contient les temps de rétention prévus pour les composants concernés. Si un pic correspond au temps de rétention/migration d'un pic présent dans le tableau d'étalonnage, il reçoit les attributs de ce composant, par exemple, le nom et le facteur de réponse. Les pics qui ne correspondent à aucun de ceux du tableau d'étalonnage sont répertoriés comme inconnus. Le processus est contrôlé par :

- le temps de rétention/migration du tableau d'étalonnage pour les pics désignés comme pics de référence,
- les fenêtres de temps de rétention/migration spécifiées pour les pics de référence,
- les temps de rétention/migration dans le tableau d'étalonnage pour les pics étalonnés qui ne sont pas des pics de référence,
- la fenêtre de temps de rétention/migration spécifiée pour ces pics normaux (pas de référence : non-reference), et
- la présence d'éventuels pics de qualification supplémentaires dans les rapports corrects.

Règles de correspondance des pics

Les règles suivantes s'appliquent au processus de correspondance des pics :

- si un pic d'échantillon se situe dans la fenêtre de correspondance d'un pic de composant provenant du tableau d'étalonnage, il reçoit les attributs de ce composant,
- si plus d'un pic d'échantillon se situent dans la fenêtre de correspondance, le pic le plus proche du temps de rétention/migration prévu est identifié comme ce composant,
- si un pic correspond à une référence ou un étalon interne, le pic le plus grand dans la fenêtre est identifié comme étant celui de ce composant,
- si des qualificatifs de pics sont aussi utilisés, le rapport du pic est utilisé conjointement à la fenêtre de correspondance des pics pour identifier le pic du composant,
- si le pic est un pic qualificateur, le pic mesuré le plus proche du pic principal du composé est identifié, et
- si un pic d'échantillon ne se situe dans aucune fenêtre de correspondance des pics, il figure dans la liste des composants inconnus.

Types d'identification des pics

Il existe différentes techniques pour comparer les pics d'échantillon à ceux qui se trouvent dans le tableau d'étalonnage du logiciel ChemStation.

Temps de rétention/migration absolu

Le temps de rétention/migration pour ce pic d'échantillon est comparé au temps prévu spécifié pour chaque composant dans le tableau d'étalonnage.

Temps de rétention/migration corrigé

Les temps de rétention/migration prévus pour les pics de composant sont corrigés en utilisant les temps de rétention/migration réels d'un ou plusieurs pics de référence ; et la correspondance s'effectue en utilisant ces temps de rétention/migration corrigés (relatifs). Le ou les pics de référence doivent être spécifiés dans le tableau d'étalonnage.

Qualificateurs des pics

Outre l'identification des pics par le temps de rétention/migration, vous pouvez utiliser des qualificateurs de pics pour obtenir un résultat plus précis. Si plus d'un pic survient dans une fenêtre de temps de rétention/migration, les qualificateurs devront être utilisés pour identifier le composant corrigé.

Limites de quantité

Les limites de quantité définies dans la boîte de dialogue Compound Details sont utilisées pour qualifier l'identification du pic. Si la quantité du composant identifié se situe à l'intérieur des limites de quantité, l'identification du pic est indiquée dans le rapport.

Temps de rétention/migration absolu

La fenêtre de temps de rétention/migration est utilisée dans le processus de correspondance des pics. Cette fenêtre est centrée sur le temps de rétention/migration pour un pic prévu. Tout pic d'échantillon qui se situe dans cette fenêtre peut être considéré comme candidat pour l'identification du composant.

La [Figure 29](#) montre une fenêtre de temps de rétention/migration pour le pic 2 situé entre 1,809 et 2,631 minutes, dans laquelle le temps de rétention/migration prévu est de 2,22 minutes. Il existe deux possibilités pour le pic 2 : l'une à 1,85 minutes et l'autre à 2,33 minutes. Si le pic prévu n'est pas un pic de référence, le pic le plus proche du temps de rétention/migration prévu de 2,22 minutes est sélectionné.

Si le pic prévu correspond à une référence ou à un étalon interne, le pic le plus grand dans la fenêtre est sélectionné.

Dans les deux cas, la ChemStation sélectionne le pic à 2,33 minutes. Si les deux pics étaient de même taille, le plus proche du centre de la fenêtre serait choisi.

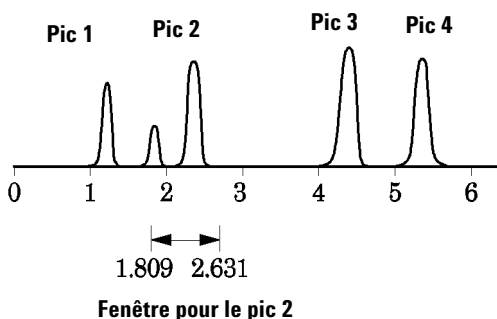


Figure 29 Fenêtres de temps de rétention/migration

Trois types de fenêtre interviennent dans la localisation des pics :

- les fenêtres de pic de référence qui ne s'appliquent qu'aux pics de référence,
- les fenêtres de pic normaux (pas de référence) qui s'appliquent à tous les autres pics étalonnés, et
- les fenêtres avec valeurs spécifiques pour des composants individuels définis dans la boîte de dialogue **Compound Details**.

Les valeurs par défaut pour ces fenêtres sont introduites dans la boîte de dialogue Calibration Settings. La largeur d'un côté quelconque du temps de rétention/migration qui définit la fenêtre de correspondance des pics est la somme des fenêtres absolues et de pourcentage.

Une fenêtre de 5% signifie que le pic doit avoir un temps de rétention/migration de +/- 2,5 % que le temps de rétention/migration étalonné pour ce pic. Par exemple, un pic avec un temps de rétention/migration de 2,00 dans l'analyse d'étalonnage doit apparaître entre 1,95 et 2,05 minutes dans les analyses suivantes.

Par exemple, une fenêtre absolue de 0,20 minutes et une fenêtre relative de 10 % donnent une fenêtre de temps de rétention/migration se situant entre 1,80 et 2,20 minutes.

$1,80 \text{ min} = 2,00 \text{ min} - 0,10 \text{ min} (0,20 \text{ min} / 2) - 0,10 \text{ min} (10 \% \text{ de } 2,00 \text{ min}).$

$2,20 \text{ min} = 2,00 \text{ min} + 0,10 \text{ min} (0,20 \text{ min} / 2) + 0,10 \text{ min} (10 \% \text{ de } 2,00 \text{ min}).$

Temps de rétention/migration corrigés

Etablir la correspondance entre des pics par les temps de rétention/migration absolus est peut-être simple mais pas toujours fiable. En effet, les temps de rétention/migration individuels peuvent varier légèrement par suite d'un petit changement de conditions ou de technique. De ce fait, certains pics peuvent sortir des fenêtres de correspondance et seront donc non identifiés.

Pour prendre en compte les inévitables fluctuations intervenant dans les temps de rétention/migration absolus, l'une des techniques consiste à exprimer les temps de rétention/migration des composants par rapport à un ou plusieurs pics de référence.

Les pics de référence sont identifiés dans le tableau d'étalonnage par (comme) une entrée dans la colonne référence. La technique de correspondance relative utilise le ou les pic(s) de référence pour modifier l'emplacement des fenêtres de correspondance, afin de compenser les glissements dans les temps de rétention/migration des pics d'échantillon.

Si aucun pic de référence n'est défini dans la méthode ou si la ChemStation ne peut identifier au moins un pic de référence pendant l'analyse, le logiciel utilise les temps de rétention/migration absolus pour l'identification.

Pics de référence uniques

Une fenêtre de temps de rétention/migration pour le pic de référence est créée aux alentours de son temps de rétention/migration. Le plus grand pic se situant dans cette fenêtre est considéré comme le pic de référence. Les temps de rétention/migration prévus de tous les autres pics dans le tableau d'étalonnage sont corrigés proportionnellement au rapport entre le temps de rétention/migration prévu et le temps de rétention/migration réel du pic de référence.

Pics de référence multiples

La correction des temps de rétention/migration avec un pic de référence unique est basée sur le postulat que l'écart du temps de rétention/migration réel par rapport aux temps de rétention/migration prévus change de manière uniforme et linéaire pendant le déroulement de l'analyse. Or, pendant une longue analyse, il est fréquent que les temps de rétention/migration changent de manière non uniforme. Dans de tels cas, il vaut mieux utiliser des pics de référence multiples espacés à certains intervalles pendant l'analyse. Le signal est ainsi divisé en zones séparées. A l'intérieur de chaque zone, l'écart entre les temps de rétention/migration est supposé changer de manière linéaire, mais la vitesse de changement est déterminée séparément pour chaque zone.

REMARQUE

L'algorithme de correction du temps peut échouer si les temps de rétention de pics de référence multiples sont trop proches les uns des autres et ne sont pas distribués sur la totalité du temps d'analyse.

Qualificateurs des pics

Un composant peut être détecté avec plus d'un signal. Bien que la détection multisignal s'applique à toutes les formes de chromatographie utilisant des détecteurs multiples ou des détecteurs capables de produire des signaux multiples, elle est généralement utilisée dans la chromatographie en phase liquide avec des détecteurs à longueurs d'onde multiples ou à barrette de diodes. De tels détecteurs sont normalement préparés de telle sorte que la longueur d'onde la plus proche de la plus grande absorbance (aire) soit utilisée pour définir le pic principal dans le tableau d'étalonnage. Dans la [Figure 30](#), il s'agit de λ_1 .

Les deux autres longueurs d'onde acquises en tant que signaux peuvent être utilisées comme qualificateurs des pics. Dans la [Figure 30](#), il s'agit de λ_2 et λ_3 .

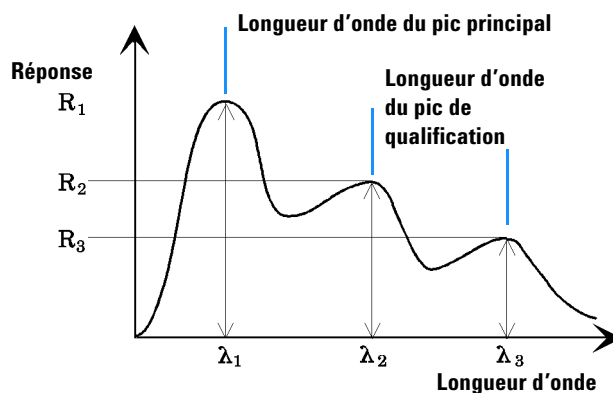


Figure 30 Qualificateurs de pics

Les pics d'un composé présentent un rapport de réponse constant sur différentes longueurs d'onde.

La réponse du pic de qualification correspond à un certain pourcentage de la réponse du pic principal. Les limites déterminant la gamme acceptable pour la réponse prévue peuvent être définies dans le tableau d'étalonnage lorsque l'option Identification Details est choisie. Si le rapport entre le qualificateur de pic principal λ_1 et le qualificateur de pic, par exemple, λ_3 se situe dans des limites acceptables, alors l'identité du composé peut être confirmée.

La corrélation de signal

La corrélation de signal signifie que deux pics mesurés dans des signaux de détecteurs différents à l'intérieur d'une fenêtre de temps déterminée sont affectés au même composé. La fenêtre de corrélation de signal peut être contrôlée par le paramètre SignalCorrWin dans le tableau QuantParm du registre DaMethod. La corrélation de signal est désactivée lorsque la définition de la fenêtre de corrélation de signal est de 0,0 minute (voir le *Guide de Macro-Programmation* pour un complément d'information). Lorsque la corrélation de signal n'est pas active, les pics éluant au même temps de rétention/migration dans des signaux de détecteur différents sont traités comme des composés différents.

Les données de la fenêtre (par défaut) de corrélation de signal pour la CPL, CE, CE/MS et CPL/SM est de 0,03 minute et 0,0 minute pour les données CPG.

Vérification du qualificateur

Si la corrélation de signal est activée, la vérification du qualificateur est active par défaut pour tous les types de fichiers de données. Elle peut être désactivée en définissant le drapeau UseQualifiers dans le tableau des paramètres de Quantification de la méthode (voir le guide de macro-programmation pour des informations complémentaires). La vérification du qualificateur est également désactivée lorsque la corrélation de signal est neutralisée.

Calcul du rapport de qualification

Lorsque la vérification des qualificateurs est activée pour un composé, le rapport de la taille du qualificateur et la taille du pic principal est vérifiée par rapport aux limites étalonnées. La taille peut correspondre soit à la hauteur soit à l'aire en fonction des paramètres de calcul de base dans le rapport spécifié (Specify Report).

Les pics de qualification peuvent être étalonnés de la même manière que les composés cibles. L'utilisateur n'a pas besoin de spécifier le rapport attendu. Le rapport attendu est calculé de façon automatique :

QualRespRatio = Réponse du qualificateur / Réponse du pic principal
tous deux mesurés au temps de rétention du composé.

Le paramètre QualTolerance définit la gamme acceptable pour le rapport de qualification, par exemple, $\pm 20\%$.

La tolérance peut être définie dans l'interface utilisateur du tableau d'étalonnage (Identification Details) et correspond à un pourcentage absolu. Par exemple, pourcentage absolu :

Gamme acceptable = $50\% \pm 20\% = 30\% \dots 70\%$

Pour les étalonnages à plusieurs niveaux, la ChemStation calcule une tolérance de qualification minimale à partir des rapports de qualification mesurés à chaque niveau d'étalonnage. La tolérance de qualification minimale est calculée à partir de l'équation suivante :

$$\text{minimum qualifier tolerance} = \frac{\sum_{i=1}^n (q_i - \bar{q})}{\bar{q} \times i} \times 100$$

où q_i est le rapport de qualification mesuré au niveau i .

Le processus d'identification

Lors de la tentative d'identification des pics, le logiciel traite trois fois les données d'intégration.

Trouver les pics de référence

Au premier passage, les pics de référence sont identifiés. Le logiciel examine les temps de rétention/migration des pics provenant d'une analyse, pour trouver des correspondances dans les fenêtres de rétention/migration des pics de référence dans le tableau d'étalonnage. Un pic provenant de l'analyse est identifié comme un pic de référence dans le tableau d'étalonnage si le temps de rétention/migration du pic d'analyse se situe dans la fenêtre construite pour le pic du tableau d'étalonnage.

Si plus d'un pic est trouvé dans une fenêtre, celui qui a la plus grande aire ou hauteur suivie d'une correspondance de qualificateur de signal positif, si établie, est choisi comme pic de référence.

Une fois chaque pic de référence trouvé, la différence entre son temps de rétention/migration et celle qui figure dans le tableau d'étalonnage, est utilisée pour ajuster les temps de rétention/migration prévus de tous les autres pics dans le tableau d'étalonnage.

Trouver les pics ISTD

Au second passage, les éventuels pics étalons internes définis sont identifiés. S'ils n'ont pas déjà été identifiés en tant que ISTD, ils peuvent l'être en tant que pics de référence. Les pics ISTD sont identifiés par les fenêtres de temps de rétention/migration des pics et par les qualificateurs de pics. Si plus d'un pic est trouvé dans une même fenêtre ISTD, le plus grand d'entre eux est choisi.

Trouver les pics étalonnés restants

Au troisième passage, tous les pics restants figurant dans le tableau d'étalonnage sont identifiés. Les pics autres que ceux de référence dans le tableau d'étalonnage sont comparés aux pics d'analyse restants en utilisant leur fenêtre RT.

A chaque pic étalonné correspond un temps de rétention/migration propre dans le tableau d'étalonnage. Cette valeur est ajustée pour l'analyse particulière d'après la pré-identification des pics de référence. La fenêtre de temps de rétention/migration du pic étalonné est ajustée d'après le temps de rétention/migration corrigé du pic étalonné.

Si plus d'un pic est trouvé dans la même fenêtre, le pic avec un temps de rétention/migration le plus proche du temps de rétention/migration prévu et qui répond aussi aux spécifications de qualificateur facultatives est choisi.

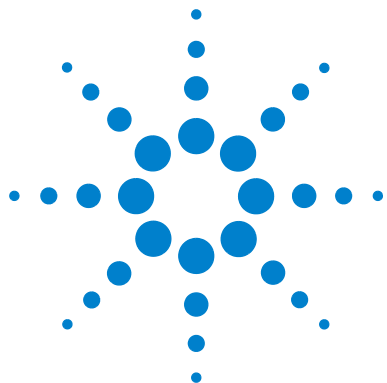
Classification des pics non identifiés

S'il reste des pics non identifiés, ils sont classifiés comme inconnus. La ChemStation tente de grouper les pics inconnus appartenant au même composé. Si un pic a été détecté dans plus d'un signal, les pics avec le même temps de rétention/migration dans chaque signal sont groupés en un seul composé.

Les pics inconnus figurent dans le rapport si cette option a été choisie dans la boîte de dialogue Calibration Settings.

6 **Identification des pics**

Le processus d'identification



7 Etalonnage

Terminologie	152
Tableau d'étalonnage	153
Courbe d'étalonnage	154
Echantillons inconnus	156
Types d'étalonnage	157
Etalonnage à un seul point	157
Etalonnage multipoints	158
Gammes d'étalonnages	160
Ajustements de la courbe d'étalonnage	160
Traitement de l'origine	161
Etalonnage de groupe	164
Addition des pics	165
Re-étalonnage	166
Qu'est-ce que le ré-étalonnage ?	166
Pourquoi ré-étalonner ?	166
Ré-étalonnage manuel	167
Ré-étalonnage avec addition des pics	167
Options de ré-étalonnage	167
Méthodes de ré-étalonnage	168
Ré-étalonnage des pics non identifiés	169



Terminologie

Étalonnage	L'étalonnage est le processus qui consiste à déterminer les facteurs de réponse utilisés pour calculer les concentrations absolues de composé en injectant des échantillons d'étalonnage préparés spécialement. Le tableau d'étalonnage sert aussi à l'identification. Voir le Chapitre 6 , "Identification des pics".
Composé	Un composé chimique peut être constitué de plusieurs pics, dans un étalonnage à signaux multiples, en principe un par signal. Dans un étalonnage à un seul signal, un composé fait référence à un pic.
Niveau d'étalonnage	Un niveau d'étalonnage est constitué des points d'étalonnage pour une concentration d'échantillon d'étalonnage. Dans un étalonnage multiségnal, les points d'étalonnage peuvent être distribués sur plusieurs signaux.
Point d'étalonnage	Un point d'étalonnage fait référence à un rapport quantité/réponse pour un pic présent sur la courbe d'étalonnage.
Échantillon d'étalonnage	Un échantillon d'étalonnage, aussi appelé étalon ou mélange étalon, est un échantillon contenant une quantité connue du composé à quantifier. Dans le logiciel, l'échantillon d'étalonnage est considéré comme une injection effectuée à partir du flacon de l'échantillon d'étalonnage. Vous pouvez acheter les échantillons d'étalonnage chez les fournisseurs de produits chimiques ou les préparer en utilisant une quantité très précise du composé pur. La quantité du composé dans l'échantillon d'étalonnage est généralement exprimée en tant que concentration, par exemple en unités ng/µl.

Tableau d'étalonnage

Le tableau d'étalonnage spécifie les conversions des aires ou hauteurs de pics en unités de votre choix, d'après la procédure de calcul sélectionnée. Le tableau d'étalonnage contient une liste des temps de rétention/migration provenant d'une analyse d'étalonnage. Ces temps sont comparés à ceux des pics provenant d'une analyse d'échantillon. S'il y a correspondance, le pic de l'échantillon est supposé représenter le même composé que celui qui figure dans la table d'étalonnage. Voir le [Chapitre 6](#), "Identification des pics". Durant une analyse ou pendant la génération d'un rapport, les quantités entrées pour chaque pic sont utilisées pour calculer les quantités pour la procédure de calcul sélectionnée pour le rapport. Le type et la quantité d'informations nécessaires pour créer un tableau d'étalonnage varient selon le type de procédure de calcul désirée.

Pour créer un tableau d'étalonnage, les informations suivantes sont nécessaires :

- le temps de rétention/migration pour chaque pic de composé du mélange étalon, et
- la quantité de chaque composé utilisée dans le mélange étalon, exprimée en unités homogènes.

Courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage est la représentation graphique des données, de quantité et de réponse pour un composé, obtenues à partir d'un ou de plusieurs échantillons d'étalonnage.

Normalement, une aliquote de l'échantillon d'étalonnage est injectée, un signal obtenu, et la réponse déterminée en calculant l'aire ou la hauteur du pic, comme dans la [Figure 31](#).

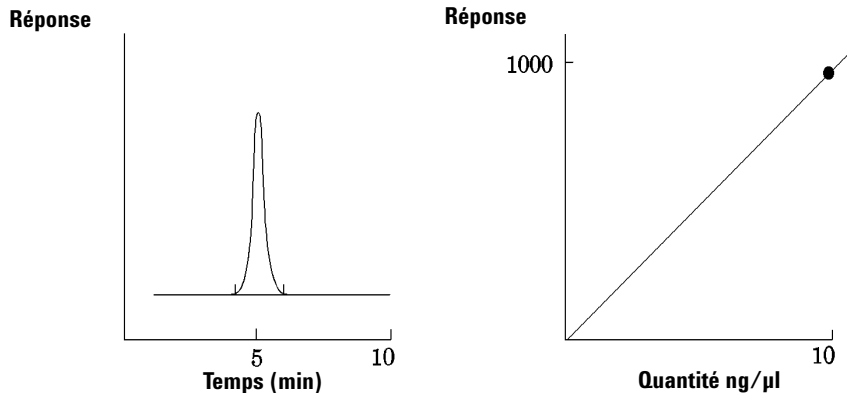


Figure 31 Echantillon d'étalonnage (10 ng/µl), signal et courbe d'étalonnage

Un *coefficient de corrélation* est affiché avec la courbe d'étalonnage. Le coefficient de corrélation est la racine carrée du coefficient de régression. C'est une mesure de l'ajustement de la courbe d'étalonnage entre les points de données. Le coefficient a une précision de trois décimales, dans la page suivante :

0,000 à 1,000

avec :

0,000 = pas d'ajustement

1,000 = ajustement parfait

Pour chaque niveau d'étalonnage, le *résiduel relatif* est affiché. Il est calculé par la formule suivante :

$$relRES = \frac{Response_{calibrated} - Response_{calculated}}{Response_{calculated}} \cdot 100$$

avec :

relRES= résiduel relatif en pourcentage

La réponse calculée représente le point sur la courbe d'étalonnage.

L'*écart type résiduel*, imprimé si l'option "Print calibration table" est sélectionnée et sur certains types de rapports, est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$ResSTD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Resp_{calibratedi} - Resp_{calculatedi})^2}{n-2}}$$

avec :

ResSTD = écart type résiduel

Resp_{étalonnéi} = réponse étalonnée pour le point i

Resp_{calculéei} = réponse calculée pour le point i

n= nombre de points d'étalonnage

Echantillons inconnus

Ce sont des échantillons contenant une quantité inconnue du composé à quantifier.

Pour connaître la quantité de composé présente dans l'échantillon inconnu, vous devez :

- créer une courbe d'étalonnage pour le composé,
- injecter une aliquote de votre échantillon inconnu et exécuter l'analyse de la même manière que pour l'échantillon d'étalonnage,
- à partir du signal, déterminer la réponse, c'est-à-dire l'aire ou la hauteur du pic par rapport à la quantité inconnue du composé, et
- utiliser la courbe d'étalonnage pour calculer la quantité du composé dans l'échantillon inconnu.

Par exemple, si l'aire d'un pic d'un échantillon inconnu est 500, vous pouvez déterminer que la quantité du composé correspondant dans l'échantillon inconnu est 5 ng/μl en utilisant la courbe d'étalonnage de la [Figure 32](#).

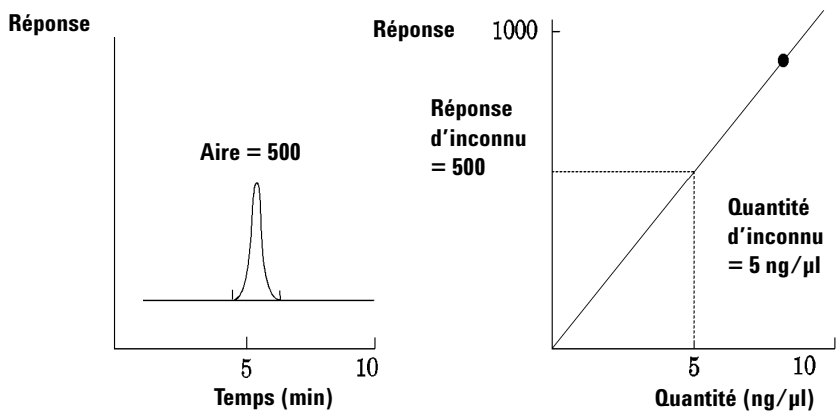


Figure 32 Signal provenant d'un échantillon inconnu et courbe d'étalonnage

Types d'étalonnage

La ChemStation propose deux types d'étalonnages : à un seul point et multipoints.

Etalonnage à un seul point

La courbe d'étalonnage présentée dans la [Figure 33](#) contient un point, c'est-à-dire un niveau. Pour cette courbe, la réponse du détecteur est supposée être linéaire sur la gamme opérationnelle des concentrations pour les échantillons concernés. Le facteur de réponse pour un pic de composé donné est fourni par l'inverse de la pente de la ligne de la courbe d'étalonnage passant par le point et l'origine. L'un des inconvénients de l'étalonnage à un seul point est que la réponse du détecteur à la concentration d'échantillon est supposée être linéaire et passer par l'origine. Cela n'est pas toujours vrai et peut conduire à des résultats inexacts.

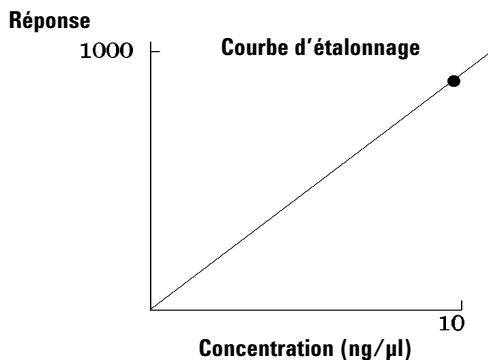


Figure 33 Courbe d'étalonnage à un seul point

Pour obtenir des résultats quantitatifs exacts, une courbe d'étalonnage doit avoir au moins deux points. Ces points doivent délimiter les quantités que l'on s'attend à trouver dans les échantillons inconnus.

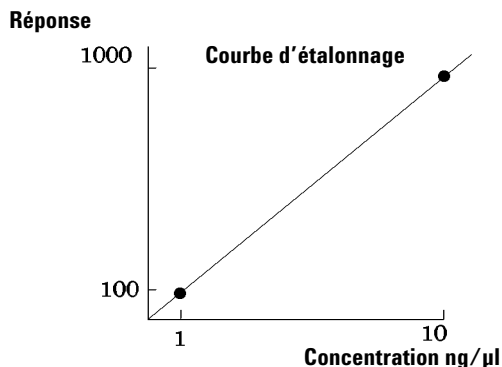


Figure 34 Courbe d'étalonnage à deux points

Par exemple, si vous voulez quantifier un composé et s'il est prévu que les échantillons inconnus soient de 1 à 10 ng/μl, une courbe d'étalonnage doit avoir au moins deux points, comme illustré dans la [Figure 34](#).

Limites de quantité

La ChemStation vous permet de définir les gammes de quantification valides en termes de quantités absolues pour chaque composé.

Etalonnage multipoints

L'étalonnage multipoints peut être utilisé lorsqu'on peut supposer qu'un composé a une réponse non linéaire ou pour confirmer la linéarité de la gamme d'étalonnage. Chaque point d'étalonnage correspond à un échantillon d'étalonnage avec une concentration particulière. Les échantillons d'étalonnage doivent être préparés de telle sorte que la concentration de chaque composé varie sur toute la gamme des concentrations prévues dans les échantillons inconnus. Ainsi, il est possible de permettre un changement dans la réponse du détecteur avec la concentration et de calculer les facteurs de réponse en conséquence.

Cette courbe d'étalonnage a trois points et a un ajustement linéaire passant par l'origine. La méthode de l'ajustement linéaire passant par l'origine est similaire à l'étalonnage par la méthode à un seul point. La réponse du détecteur à la concentration est supposée être linéaire. La différence entre les deux types d'étalonnage est que, avec l'ajustement linéaire, la pente de la réponse du détecteur peut être déterminée par un meilleur ajustement passant par un certain nombre de points, un pour chaque niveau.

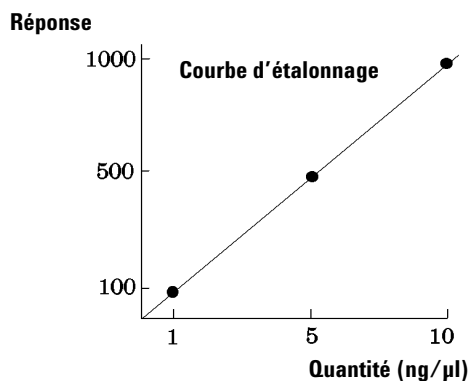


Figure 35 Courbe d'étalonnage multipoints avec trois points

Le tableau d'étalonnage correspondant, qui contient l'information utilisée pour générer cette courbe, pourrait ressembler à celui du [Tableau 12](#).

Tableau 12 Tableau d'étalonnage

Point	Quantité (ng/μl)	Réponse (comptages d'aire)
1	1	100
2	5	500
3	10	1000

Dans cet exemple, les échantillons d'étalonnage utilisés pour générer les trois points ont été identifiés en tant que 1, 2 et 3.

Gammes d'étalonnages

Chaque étalonnage multipoints est valide sur la gamme des concentrations utilisées dans les échantillons d'étalonnage. L'extrapolation d'une courbe d'étalonnage, particulièrement si elle est non linéaire, est au mieux une approximation. La gamme d'étalonnage valide pour chaque composé peut être définie dans la boîte de dialogue Compound Details. Chaque entrée pour ce composé peut être exprimée en tant que limites inférieure et supérieure. Si ces limites sont dépassées, le rapport est annoté.

Ajustements de la courbe d'étalonnage

Il existe divers calculs d'ajustement de courbe à utiliser avec l'étalonnage multipoints.

- Linéaire point à point,
- Linéaire
- Journal,
- Puissance,
- Exposant,
- Quadratique
- Cubique,
- Moyenne (Réponse/Quantité).

Ajustement non linéaire

Dans certains cas, la réponse du détecteur aux changements dans la concentration d'échantillon n'est pas linéaire. Pour ces types d'analyses, une méthode d'étalonnage par régression linéaire ne convient pas et il faut utiliser un calcul d'étalonnage multipoints.

Traitement de l'origine

Il existe quatre méthodes pour traiter l'origine lorsque la courbe de réponse est tracée :

- ignorer l'origine,
- inclure l'origine,
- forcer l'origine, ou
- relier l'origine.

Pour forcer l'inclusion de l'origine dans les points constitutifs de la courbe d'étalonnage, le système utilise les points symétriques par rapport à l'origine (1er quadrant vers 3ème quadrant). Puisque les points sont symétriques par rapport à l'origine, ce procédé garantit que la courbe d'étalonnage calculée passe par l'origine. Voir la [Figure 36](#).

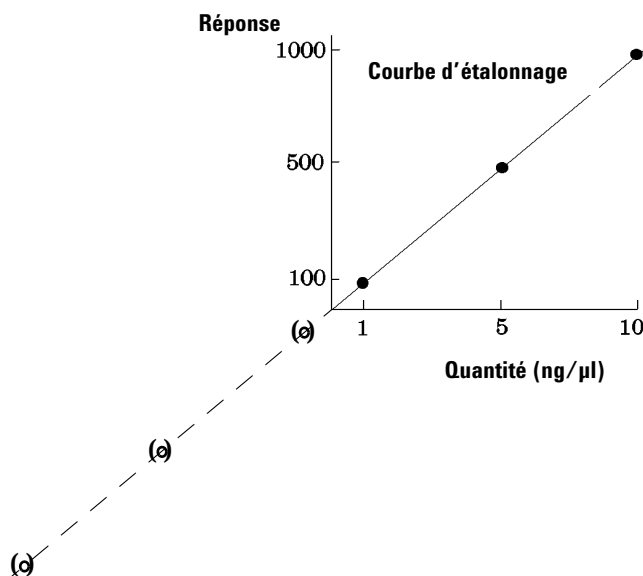


Figure 36 Obliger le calcul à inclure l'origine

Pour des informations complémentaires sur les ajustements de courbe d'étalonnage et le traitement de l'origine, voir le fichier *online help* (*aide en ligne*).

Pondération des points d'étalonnage

Lorsque vous établissez votre courbe d'étalonnage par défaut, vous pouvez spécifier le poids (ou importance) relatif des divers points d'étalonnage utilisés pour générer la courbe.

Les options de pondération suivantes peuvent être sélectionnées :

Poids	Description
Egal	Tous les points d'étalonnage ont un poids égal dans la courbe.
Dosage linéaire (Amnt)	Un point d'étalonnage avec la quantité x a la pondération $1/x$ normalisée à la plus petite quantité de telle sorte que le facteur de pondération le plus grand soit 1. La normalisation est obtenue en multipliant le poids par la plus petite quantité. Par exemple, le poids d'un point d'étalonnage avec la quantité x est : $(1/x) \times a$ avec a = la quantité la plus petite de composé étalon utilisée pour la préparation des mélanges d'étalonnage. Si l'origine est incluse, elle reçoit la moyenne des pondérations des autres points d'étalonnage.
Réponse linéaire (Resp)	Un point d'étalonnage avec la réponse y a la pondération $1/y$ normalisée à la plus petite réponse de telle sorte que le facteur de pondération le plus grand soit 1. La normalisation est obtenue en multipliant le poids par la plus petite quantité. Par exemple, le poids d'un point d'étalonnage avec la réponse y vaut : $(1/y) \times b$ avec b = réponse du composé étalon utilisé en quantité la plus petite pour la préparation des mélanges d'étalonnage. Si l'origine est incluse, elle reçoit la moyenne des pondérations des autres points d'étalonnage.
Quadratique (Quantité)	Un point d'étalonnage avec la quantité x a la pondération $1/x^2$ normalisée à la quantité la plus petite de telle sorte que le facteur de pondération le plus grand soit 1. La normalisation est obtenue en multipliant le poids par la plus petite quantité. Par exemple, le poids d'un point d'étalonnage avec la quantité x est : $(1/x^2) \times a^2$ avec a = la quantité la plus petite de composé étalon utilisée pour la préparation des mélanges d'étalonnage.

Poids	Description
Quadratique (Réponse)	Un point d'étalonnage avec la réponse y a la pondération $1/y^2$ normalisée à la réponse la plus petite de telle sorte que le facteur de pondération le plus grand soit 1. La normalisation est obtenue en multipliant le poids par la plus petite quantité. Par exemple, le poids d'un point d'étalonnage avec la réponse y vaut : $(1/y^2) \times b^2$ avec b = réponse du composé étalon utilisé en quantité la plus petite pour la préparation des mélanges d'étalonnage.
Nbre d'étalonnages	Un point d'étalonnage est pondéré d'après le nombre de ré-étalonnages du point. Aucune normalisation n'est effectuée.

La pondération quadratique des points s'utilise par exemple lorsque les points d'étalonnage sont dispersés. Ce procédé garantit que les points d'étalonnage les plus proches de l'origine, qui peuvent normalement être mesurés plus précisément, obtiennent une pondération supérieure aux points d'étalonnage plus éloignés de l'origine, qui peuvent être disséminés.

Vous devez baser votre décision, c'est-à-dire quel type de pondération de points d'étalonnage utiliser, sur les exigences de votre méthode.

Etalonnage de groupe

Vous pouvez appliquer l'étalonnage de groupe dans le cas de composés dont les concentrations individuelles ne sont pas connues mais dont la somme des concentrations pour un groupe de composés est connue. Exemple : les isomères. Des groupes de composés complets sont étalonnés. Les formules suivantes sont utilisées :

Etalonnage

$$Conc_{AB} = RF_A \cdot Response_A + RF_B \cdot Response_B$$

avec :

$Conc_{AB}$ est la concentration du groupe de composés constitué des composés A et B

$Response_A$ est l'aire (ou hauteur) du composé A

RF_A est le facteur de réponse

Pour les composés à l'intérieur d'un groupe de composés, nous supposons des facteurs de réponse égaux :

$$RF_A = RF_B$$

Par conséquent, la concentration d'un composé - dans un groupe de composés - est calculée de la manière suivante :

$$Conc_A = \frac{Conc_{AB} \cdot Resp_A}{Resp_A + Resp_B}$$

Addition des pics

Le tableau d'addition des pics est fourni pour certaines applications dans les industries pétrolière et pharmaceutique et peut être mieux utilisé avec les possibilités suivantes :

- Somme des aires des pics dans une gamme spécifiée par l'utilisateur,
- Somme des aires d'une gamme de pics, calculés avec le même multiplicateur,
- Somme des aires de tous les pics portant le même nom.

Le tableau d'addition des pics est similaire à, mais distinct de, la table d'étalonnage standard. Comme le tableau d'étalonnage, le tableau d'addition des pics fait partie de la méthode en cours.

REMARQUE

Pour une analyse, vous devez créer le tableau d'étalonnage avant de créer le tableau d'addition des pics.

Re-étalonnage

Qu'est-ce que le ré-étalonnage ?

Le ré-étalonnage est le processus qui sert à mettre à jour un point sur une courbe d'étalonnage. Lorsque vous ré-étalonnez, vous analysez un autre échantillon contenant les mêmes composés d'étalonnage que l'original et, plus important, la même quantité de ces composés. Lorsque vous analysez l'échantillon d'étalonnage, vous obtenez des facteurs de réponse et des temps de rétention/migration mis à jour. Vous pouvez aussi choisir d'obtenir la moyenne des facteurs de réponse sur plusieurs analyses d'étalonnage, afin que les facteurs de réponse soient pondérés de manière égale.

Pourquoi ré-étalonner ?

La plupart des étalonnages ont une durée de vie limitée, en raison des changements de chromatographie. Pour maintenir l'exactitude de l'analyse, le ré-étalonnage est nécessaire. Par exemple, supposons que vous ayez créé un tableau d'étalonnage pour le composé caféine que vous utilisez chaque fois que vous devez quantifier des échantillons contenant de la caféine. A un moment donné, vous devrez remplacer la colonne ou le capillaire. Même si la colonne/le capillaire est remplacé(e) par exactement un(e) autre du même type, elle/il ne se comportera pas exactement comme la/e précédent(e) lorsque vous avez créé le tableau d'étalonnage pour la caféine. Par conséquent, pour préserver la cohérence, vous devez ré-étalonner les points dans le tableau d'étalonnage avant d'utiliser la nouvelle colonne/le capillaire, pour analyser des échantillons contenant des quantités inconnues de caféine. Ce faisant, vous quantifiez des échantillons analysés dans les mêmes conditions.

Ré-étalonnage manuel

Vous pouvez entrer manuellement les paramètres d'étalonnage des pics et normaliser le tableau d'étalonnage à l'aide du bouton d'option "Manual Setup" dans la boîte de dialogue "New Calibration Table". Habituellement, une nouvelle méthode d'étalonnage est créée en injectant un mélange étalon, créant la table et en entrant les quantités de tous les pics étalonnés pour obtenir les facteurs de réponse. Cette approche est insuffisante dans le cas de certaines applications, comme celles de l'industrie pétrolière où les mêmes composés sont analysés depuis des années et les facteurs de réponse des différents composés et détecteurs parfaitement connus.

Vous créez manuellement le tableau d'étalonnage en entrant les pics et leur facteur de réponse dans le tableau d'étalonnage, puis en ré-étalonnant la méthode à l'aide d'un étalon qui contient au moins un pic de référence, et en choisissant le Delta% pour la mise à jour.

Ré-étalonnage avec addition des pics

Quand un ré-étalonnage est réalisé, les gammes des temps de rétention/migration dans le tableau d'addition des pics de la méthode seront remises à jour avant le ré-étalonnage. Le ré-étalonnage des additions de pics est effectué de cette manière pour assurer que le delta soit incorporé dans les calculs de temps.

Options de ré-étalonnage

Vous disposez de plusieurs méthodes pour mettre à jour les réponses avec les nouvelles données d'étalonnage dans le tableau d'étalonnage.

Average

(Moyenne) La moyenne de toutes les sessions d'étalonnage est calculée par la formule suivante :

$$Response = \frac{n \cdot Response + MeasResponse}{n + 1}$$

où :

n = nombre d'étalonnages précédents

MeasResponse = réponse mesurée

Floating Average

(Moyenne flottante) Une moyenne pondérée est calculée pour toutes les sessions d'étalonnage. Le poids mis à jour est défini dans la boîte de dialogue "Recalibration Settings".

$$Response = \left(1 - \frac{Weight}{100}\right) \cdot Response + \left(\frac{Weight}{100}\right) \cdot MeasResponse$$

où :

poids = poids de mise à jour de réponse défini dans Recalibration Settings

MeasResponse = réponse mesurée

Remplacer

(Remplacer) Les nouvelles valeurs de réponse remplacent les anciennes.

Méthodes de ré-étalonnage

Le logiciel ChemStation permet de ré-étalonner de deux manières. Vous pouvez ré-étalonner interactivement ou automatiquement pendant une séquence d'analyses automatisées. Dans le ré-étalonnage interactif, vous effectuez directement le processus de ré-étalonnage en utilisant le logiciel ChemStation, après avoir injecté un ou plusieurs échantillons d'étalonnage. Dans le

ré-étalonnage avec une séquence, vous spécifiez quand le ré-étalonnage a lieu, mais c'est le logiciel d'automatisation qui l'effectue. Pour plus d'informations, voir "[Ré-étalonnage automatique](#)" page 187.

Pour plus d'informations sur la manière d'effectuer le ré-étalonnage en utilisant le logiciel, voir la partie Comment faire pour du système d'aide.

Ré-étalonnage des pics non identifiés

Il existe trois manières de ré-étalonner les pics non identifiés.

Pas de ré-étalonnage

Si un pic, dans le tableau d'étalonnage, ne peut pas être identifié dans les résultats d'intégration, l'étalonnage est interrompu. Si cela se produit dans une séquence, celle-ci est également interrompu.

Ré-étalonnage partiel

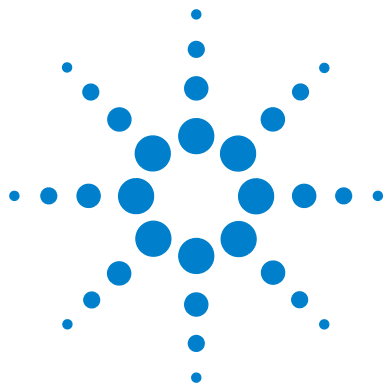
Cette fonction permet de ne ré-étalonner que les pics identifiés. Si des pics manquent, l'étalonnage n'est pas interrompu, mais l'absence des pics est signalée dans le rapport.

Ré-étalonnage des temps de rétention/migration

Cette fonction permet le ré-étalonnage du temps de rétention/migration de tous les pics identifiés et non identifiés. Cela s'effectue en utilisant les temps de rétention/migration des pics identifiés. Il n'y a pas de mise à jour des facteurs de réponse pour les pics non identifiés.

7 Etalonnage

Re-étalonnage



8 Automatisation

Qu'est-ce que l'automatisation ?	173
Qu'est-ce qu'une séquence ?	174
Paramètres de séquence	175
Tableau de séquence	176
Création des séquences	177
Utilisation du bouton "Insert Vial Range"	177
Utilisation du bouton "Append Line"	177
Travailler avec des séquences	178
Echantillons prioritaires	178
Pour effectuer une séquence avec des échantillons de contrôle	178
Pour arrêter une séquence	178
Pour interrompre une séquence	178
Pour suspendre une séquence	179
Pour exécuter partiellement une séquence	179
Fichier journal de séquence	181
Que se passe-t-il lorsqu'une séquence est exécutée ?	182
Pour nommer des fichiers de données dans une séquence	183
Pour nommer des fichiers de données automatiques pendant une séquence	183
Pour entrer des noms de fichiers de données manuellement	184
Fonctionnement après séquence	186
Not Ready Timeout (CPL et EC seulement)	186
Wait Time (CPL et EC seulement)	186
Ré-étalonnage automatique	187
Pour spécifier des ré-étalonnages	188
Paramètres de ré-étalonnage dans le tableau de séquence	188
Types de séquences	191
Séquences d'étalonnage explicites	192
Séquences d'étalonnage cycliques à un seul point	193



Séquences d'étalonnage cycliques multipoints	194
Ordre d'analyse de Méthode A	196
Ordre d'analyse de Méthode B	197
Etalonnages explicites et cycliques réunis	198
Exemple	198
Ordre d'analyse SimpReg	199
Séquences d'étalonnage cyclique avec délimitation	200
Exemple	200
Fonctionnement de la séquence délimitée	202
Exemple	202
Séquences de ré-étalonnage cycliques avec plusieurs flacons contenant un étalon dilué dans les mêmes proportions	205
Séquence de ré-étalonnages cycliques avec utilisation de flacon d'étalonnage en essai circulaire "Round-Robin"	205
Ré-étalonnages cycliques, chaque étalonnage utilisant un flacon différent	207
Séquence délimitée utilisant des flacons différents pour ouvrir et fermer la délimitation	207

Qu'est-ce que l'automatisation ?

L'automatisation est l'analyse de plus d'une injection, sans intervention de l'opérateur.

La partie séquence du logiciel ChemStation vous permet d'automatiser l'acquisition, l'évaluation des données et la génération des rapports.

Qu'est-ce qu'une séquence ?

Une séquence est une suite d'instructions destinées à automatiser l'analyse des échantillons.

Vous pouvez utiliser une séquence pour injecter automatiquement chaque échantillon, acquérir et analyser les données d'après la méthode que vous avez spécifiée pour cet échantillon. Chaque flacon d'échantillon dans une séquence peut être analysé avec une méthode analytique différente, et donc utiliser différentes combinaisons de conditions chromatographiques/électrophorographique et de paramètres d'évaluation.

Paramètres de séquence

La boîte de dialogue "Sequence Parameters" contient des informations communes à tous les flacons d'échantillon dans une séquence. Utilisez-la pour :

- entrer des informations concernant le répertoire de données et le nom de l'opérateur (Le nom de l'opérateur introduit dans la boîte de dialogue access level apparaît), et
- spécifier la manière d'effectuer le traitement de séquence en choisissant des paramètres "Part of Methods to Run" particuliers.

Par exemple, vous pouvez choisir :

- d'exécuter la liste de contrôle d'exécution (run-time checklist),
- de ne faire que des acquisitions, ou
- de ne faire que le retraitement.

Dans ce cas, vous avez deux possibilités : utiliser les données d'échantillon définies lors de l'analyse initiale de l'échantillon, ou cocher la case "Use Sequence Table" pour pouvoir utiliser des données d'échantillon mises à jour en entrant de nouvelles données dans le tableau de séquence :

- spécifier ce qui se passe lorsque la séquence est terminée, en utilisant les paramètres, et
- spécifier si les codes-barres doivent être utilisés dans la séquence et comment gérer une discordance de codes-barres, en supposant le système doté de ce type de lecteur.

Tableau de séquence

Le tableau de séquence détermine quelles méthodes sont utilisées pour analyser les flacons d'échantillon et leur ordre d'analyse. Il contient aussi des informations sur chaque échantillon, y compris le nom et les paramètres de quantification.

La boîte du groupe d'injection est affichée pour les instruments qui supportent le double échantillonnage (CPG). En sélectionnant Front ou Back, vous affichez les lignes dans le tableau de séquence et le statut actuellement en vigueur pour cet injecteur.

Pour obtenir une description des colonnes de ce tableau et de la manière dont elles interagissent avec l'information stockée avec la méthode, voir l'aide en ligne.

Création des séquences

Utilisez le tableau de séquence pour spécifier les échantillons, méthodes et flacons à analyser dans la séquence. Le tableau de séquence donne la liste de tous les échantillons présents dans la séquence, dans l'ordre dans lequel ils seront analysés, et il contient les informations de flacon, de méthode et d'étalonnage nécessaires pour chaque échantillon.

Utilisation de l'éditeur de table de séquence

Pour modifier l'apparence et le contenu de la table de séquence, vous pouvez ouvrir l'éditeur en cliquant sur le symbole de liste en bas à droite de la table. L'éditeur de table de séquence s'ouvre et permet de spécifier l'affichage ou non de certaines colonnes dans la table. De plus, vous pouvez modifier les largeurs de colonnes pour chaque colonne de la table. Selon les logiciels installés, d'autres champs de colonnes peuvent être ajoutés, par exemple le champ "Target Mass (Masse cible)" si un CPL/SM est installé, le champ "Study (Etude)" pour l'installation d'un module supplémentaire ChemStore.

Utilisation du bouton "Insert Vial Range"

Si de nombreux échantillons utilisent la même méthode, vous pouvez les entrer rapidement dans le tableau de séquence grâce à la fonction "Insert Vial Range". Celle-ci copie le nom de la méthode, la gamme des flacons, le nombre d'injections par flacon, et, si vous le spécifiez, la quantité d'échantillon, la quantité ISTD, le multiplicateur et la dilution. Le système entre ensuite l'information pour chaque flacon de la gamme dans le tableau de séquence.

Utilisation du bouton "Append Line"

Pour ajouter une nouvelle ligne vierge à la fin du tableau de séquence, sélectionnez le bouton "Append Line".

Travailler avec des séquences

L'accès et la création des séquences s'effectuent à partir du menu Sequence. Vous pouvez créer et enregistrer des séquences de la même manière que des méthodes. L'enregistrement d'une séquence entraîne la création d'un fichier avec une extension .S. Pour modifier ou utiliser à nouveau la séquence, vous pouvez y accéder en utilisant la rubrique "Load Sequence" du menu Sequence.

Echantillons prioritaires

Il est possible de suspendre une séquence en cours dès que la méthode en cours est terminée. Cela, pour permettre l'analyse d'un échantillon prioritaire par la même méthode ou par une autre. La séquence peut ensuite être relancée et elle continue alors avec l'échantillon sur lequel elle a été suspendue.

Pour effectuer une séquence avec des échantillons de contrôle

Vous pouvez spécifier des échantillons de contrôle dans le champ "Sample Type" du tableau de séquence. La méthode utilisée pour analyser l'échantillon de contrôle doit contenir un tableau d'étalonnage avec spécification des limites de l'échantillon de contrôle pour l'un des composés. Si ces limites sont dépassées, la séquence s'arrête et un message s'inscrit dans le journal. Si vous utilisez l'un des styles de rapports ChemStation, les limites de l'échantillon de contrôle sont aussi imprimés sur les rapports produits pour ces analyses. Pour plus d'informations sur la manière de définir une séquence avec des échantillons de contrôle, voir la section «Comment faire pour» du système d'aide en ligne.

Pour arrêter une séquence

L'analyse en cours sera terminée avant que la séquence ne s'arrête si vous appuyez sur Stop. Une fois arrêtée, une séquence ne peut plus jamais être relancée.

Pour interrompre une séquence

La fonction d'interruption (abort) met immédiatement fin à une séquence en cours.

Pour suspendre une séquence

Pendant une suspension (pause) de séquence, il n'est pas possible de changer le nom du fichier de tableau de séquence ni celui du fichier de données. Dans le tableau de séquence, vous ne pouvez changer que les lignes de séquence non encore exécutées, ou changer le numéro du flacon dans la ligne de séquence en cours. Vous pouvez ajouter, supprimer et changer des lignes de séquence pour des analyses futures.

Il peut, par exemple, être nécessaire de modifier une séquence active pour ajouter un nouveau lot d'échantillons. Vous pouvez modifier la séquence afin que ces flacons soient les prochains échantillons que la ChemStation traitera après ceux qui se trouvent dans la ligne de séquence en cours d'analyse.

Pour exécuter partiellement une séquence

Un tableau de séquence déjà créé peut être partiellement exécuté en sélectionnant "Partial Sequence" dans le menu Sequence. La boîte de dialogue "Partial Sequence", dans laquelle vous pouvez sélectionner des échantillons individuels du tableau pour les analyser, s'affiche.

Chaque ligne de cette boîte de dialogue présente une analyse unique. Pour chaque analyse, le flacon, la méthode, le fichier de données et le nom de l'échantillon sont indiqués. En outre, des informations codées sur le tableau de séquence et d'éventuels échantillons d'étalonnage figurent dans les colonnes Seq Tbl et Calib:RF:RT. Voir l'aide en ligne pour une explication de ces codes.

Vous pouvez obtenir une impression d'une séquence partielle en sélectionnant le bouton Print.

La boîte de dialogue "Partial Sequence" est obtenue lorsque la méthode "SimpReg" et le tableau de séquence, montrés plus loin dans le [Tableaux 18](#) page 198 et le [Tableaux 19](#) page 199, sont en cours. Les échantillons 1, 2, 4, 5 et 8 sont marqués pour traitement.

8 Automatisation

Travailler avec des séquences

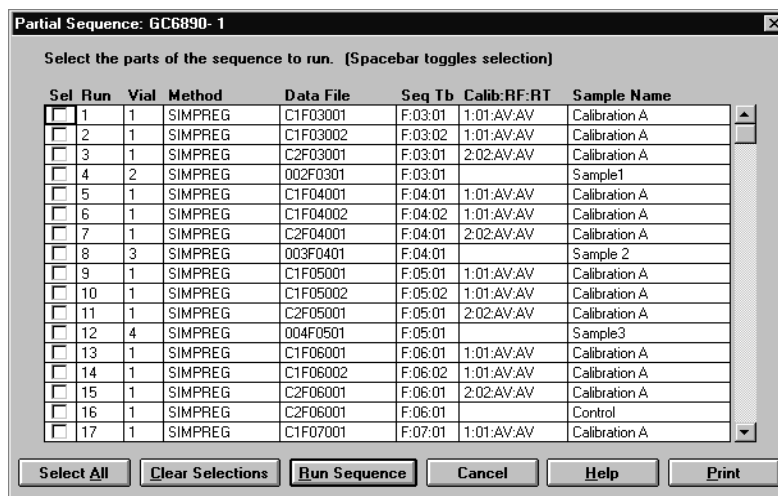


Figure 37 Boîte de dialogue "Partial Sequence"

Fichier journal de séquence

Un fichier journal de séquences indiquant ce qui s'est produit pendant l'exécution de la séquence est généré. Il sert à signaler les erreurs survenues si la séquence est exécutée sans intervention de l'opérateur ou de nuit. Le nom du fichier journal a toujours l'extension .log. Ce fichier se trouve dans le répertoire où sont stockées les données de la séquence.

Que se passe-t-il lorsqu'une séquence est exécutée ?

- S'il fonctionne avec un échantillonneur automatique, le logiciel ChemStation trouve d'abord l'échantillon dans le passeur automatique d'échantillons, d'après le numéro entré dans la colonne vial.
- L'instrument est chargé avec les paramètres de méthode.
- La macro pré-analytique est exécutée.
- L'échantillon est ensuite injecté dans l'instrument (manuellement ou automatiquement).
- Les données de méthode sont évaluées. Intégration, quantification, y compris toute macro spécifiée par l'utilisateur.
- La macro post-analytique est exécutée.
- Pendant tout le processus, la ChemStation suit la progression de la séquence en temps réel et produit un fichier journal de séquences.

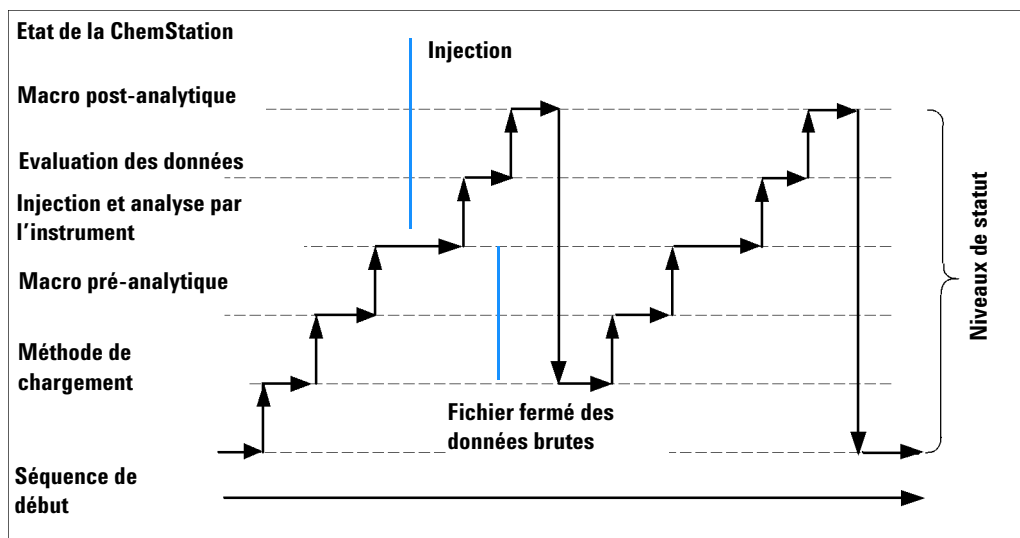


Figure 38 Etat de la séquence

Pour nommer des fichiers de données dans une séquence

L'attribution de noms à des fichiers de données dans une séquence peut se faire par les méthodes suivantes :

- automatique,
- manuelle, ou
- préfixe/compteur.

Dans chaque cas, vous devez indiquer le sous-répertoire dans lequel les fichiers de données seront stockés ; voir “[Paramètres de séquence](#)” page 175.

Pour nommer des fichiers de données automatiques pendant une séquence

Flacons d'échantillon

Par exemple : 017-0103.D

avec :

- Les trois premiers chiffres correspondent au numéro du flacon. Par exemple, 017.
- Le quatrième chiffre en chromatographie liquide et électrophorèse capillaire est un tiret de séparation (-). Dans un chromatographe en phase gazeuse, ce sera (F) pour avant (front) ou (B) pour arrière (back).
- Les cinquième et sixième chiffres correspondent à la ligne de séquence qui définit la méthode utilisée. Par exemple, 01 pour la première ligne de séquence.
- Les septième et huitième chiffres correspondent au numéro d'injection pour ce flacon par la méthode. Par exemple, 03 pour la troisième injection.

Analyses à blanc

Par exemple NV--0499.D

avec :

- NV signifie pas de flacon (no vial).
- - est un tiret de séparation.
- 0499 est la 99^e analyse à blanc de la ligne de séquence 4.

Pour entrer des noms de fichiers de données manuellement

L'une des colonnes du tableau de séquence s'appelle Datafile. Quand elle ne contient rien, le schéma de dénomination des fichiers de données spécifié (automatique ou préfixe-compteur) est utilisé pour créer le nom des fichiers de données. Si la colonne Datafile contient du texte, celui-ci est utilisé comme nom des fichiers de données pour la session.

Si plus d'une injection par flacon est spécifiée sur une ligne avec un nom de fichier de données manuel, la ChemStation tronque automatiquement des caractères à la fin du nom entré par l'utilisateur et ajoute le numéro d'injection. Cela empêche de réutiliser le même nom de fichier de données pour des injections multiples.

Utilisation d'un préfixe/compteur pour nommer les fichiers de données

Si vous utilisez le Préfixe/Compteur pour nommer les fichiers de données, la ChemStation génère un nom pour chaque analyse. Pour un instrument qui supporte l'analyse de signaux doubles (tel que le CPG), la ChemStation générera un nom pour chaque signal.

La configuration de séquence autorise les noms de fichiers longs pour le préfixe/compteur.

Le nom de fichier de données défini par le préfixe/compteur peut avoir jusqu'à quinze caractères plus l'extension .d, soit au total dix-sept caractères.

Les règles ci-dessous s'appliquent au champ préfixe/compteur :

- le compteur lui-même peut avoir au maximum 6 caractères
- si un préfixe fournit moins de neuf caractères pour le préfixe, le compteur est étendu automatiquement à 6 chiffres
- le nom donné dans le compteur est le numéro de départ de l'incrémementation.

Tableau 13

Prefix (Préfixe)	Compteur	résultats dans le nom de fichier
long	000001	long000001
longname	000001	longname000001
testwithalongna	1	testwithalongna1

Fonctionnement après séquence

Vous pouvez spécifier ce qui se passe après la fin d'une séquence pendant l'exécution normale ou quand la ChemStation rencontre une erreur pendant l'exécution de la séquence. Pour une exécution CPL, en cochant la case Cmd/Macro des paramètres de séquence, vous avez les choix suivants :

- Mettre le système en état STANDBY avec la pompe et la lampe inactives (off),
- Mettre le système en état LAMPOFF avec toutes les lampes inactives (off). (CPL et EC seulement),
- Mettre le système en état PUMPOFF avec toutes les pompes inactives (off). (CPL et EC seulement), ou
- Utiliser une macro SHUTDOWN par défaut ou modifier SHUTDOWN.MAC pour déterminer le fonctionnement spécifique.

Par exemple, vous pouvez vouloir mettre le système hors tension une fois votre séquence terminée. La macro shutdown peut aussi servir à mettre votre débit à zéro ou à le réduire lentement.

Dans les Sequence Parameters, vous pouvez spécifier toute macro personnalisée à utiliser, en incluant son nom dans le champ "Post-Sequence Cmd/Macro" et en cochant la case.

Not Ready Timeout (CPL et EC seulement)

Le Not Ready Timeout dans les Sequence Parameters est le laps de temps pendant lequel le système attendra que l'instrument soit prêt ; après cette durée, le système s'arrêtera.

Wait Time (CPL et EC seulement)

Sequence Parameters vous permet de spécifier un temps d'attente qui intervient après le chargement d'une méthode et avant la première injection avec celle-ci. Ceci peut être utile pour permettre un ré-équilibre de la colonne/le capillaire lorsque de nouvelles conditions d'analyse sont utilisées.

Ré-étalonnage automatique

L'étalonnage se fait souvent après un changement des conditions de fonctionnement, par exemple, après le changement d'une colonne ou d'un capillaire. Le ré-étalonnage automatique s'effectue généralement au début d'une séquence d'analyses ou à intervalles réguliers pendant une séquence, dans le cadre d'un programme chargé de compenser des facteurs affectant la performance analytique.

Le ré-étalonnage de séquence automatique peut être spécifié de deux manières :

- séquences d'étalonnage explicites, ou
- séquences d'étalonnage cycliques.

Pour spécifier des ré-étalonnages

Les paramètres de ré-étalonnage pour la séquence sont entrés directement dans le tableau de séquence. Ils définissent comment la méthode est ré-étalonnée pendant une séquence.

Paramètres de ré-étalonnage dans le tableau de séquence

Le facteur de réponse et les temps de rétention/migration peuvent être mis à jour de plusieurs manières. Le niveau d'étalonnage, la mise à jour du facteur de réponse et la mise à jour des temps de rétention/migration sont des instructions utilisées dans l'analyse de données lors du ré-étalonnage du tableau d'étalonnage.

Quand Calibration est entré dans la colonne SampleType du tableau d'échantillon, les colonnes suivantes deviennent actives et peuvent être modifiées :

- Point étalon.
- Update RT
- Update RF
- Intervalle

Les valeurs que l'on peut entrer dans chacune de ces colonnes sont présentées dans le [Tableau 14](#).

Tableau 14 Paramètres de ré-étalonnage dans le tableau de séquence

CAL Level	Update RT	Update RF	Intervalle
N° niveau tableau d'étalonnage (1-999)	Pas de m.à.j	Pas de m.à.j	N° intervalle réétalonnage cyclique (1-999)
	Moyenne	Moyenne	Vierge
	Remplacer	Remplacer	

Tableau 14 (suite) Paramètres de ré-étalonnage dans le tableau de séquence

CAL Level	Update RT	Update RF	Intervalle
		Délimiter	
		Delta%	

Le [Tableau 14](#) présente les colonnes qui contiennent les paramètres de ré-étalonnage et les valeurs acceptées dans le tableau de séquence.

No Update (Pas de mise à jour)

Ne change pas le facteur de réponse ou le temps de rétention/migration.

Replace (Remplacer)

Remplace les temps de rétention/migration précédents et la réponse (aires ou hauteurs) par ceux de l'analyse en cours seulement. La réponse ne change pas pour tout pic non trouvé dans cette analyse de ré-étalonnage.

Average (Moyenne)

Etablit les temps de rétention/migration précédents et les réponses (aires ou hauteurs) pour chaque pic, en se basant sur l'analyse d'étalonnage originale et tous les ré-étalonnages depuis lors. Si un pic manque dans l'un des ré-étalonnages, la réponse du pic n'en souffrira pas.

Bracket (délimiteur)

Les échantillons sont délimités par des étalonnages pré- et post-échantillon. L'évaluation se fait lorsque le dernier échantillon d'étalonnage de la limite de fermeture a été analysé. Les données d'étalonnage existantes sont remplacées par le résultat de l'analyse d'étalonnage de la limite d'ouverture. La moyenne d'étalonnage est calculée ensuite entre la limite d'ouverture et la limite de fermeture.

Intervalle

L'intervalle de ré-étalonnage détermine la fréquence d'un étalonnage pendant une séquence. La fréquence d'étalonnage correspond au nombre d'injections d'échantillon effectuées avant que ne se déroule le prochain jeu d'injections d'étalonnage. Au début de l'analyse, un étalonnage est effectué et les résultats (facteurs de réponse) sont introduits dans le tableau d'étalonnage. Ces résultats sont ensuite utilisés dans les calculs quantitatifs. Une fois le nombre d'injections spécifié effectué, un autre étalonnage a lieu et les résultats sont introduits dans le tableau d'étalonnage où ils remplacent (par écrasement) les résultats de l'analyse d'étalonnage précédente.

Delta%

Le calcul delta% vous permet de comparer les facteurs de réponse obtenus au cours d'une analyse avec les facteurs de réponse entrés manuellement dans une table d'étalonnage. Le facteur delta% est ensuite appliqué à tous les pics étalonnés de la table. Vous pouvez spécifier plusieurs étalons internes et utiliser leurs facteurs de réponse mesurés pour calculer de nouveaux facteurs de réponse pour les autres pics. Vous spécifiez quel étalon interne est utilisé pour le calcul delta% pour chaque pic dans la table d'étalonnage.

Types de séquences

Voici quelques types de :

- séquences d'étalonnage explicites,
- séquences d'étalonnage explicites à un seul point,
- séquences d'étalonnage cycliques multipoints,
- séquences d'étalonnage explicites et cycliques réunis dans une séquence, et
- séquences d'étalonnage cycliques avec délimitation.

Séquences d'étalonnage explicites

Ce type de séquence ré-étalonne selon les intervalles définis spécifiés dans le tableau de séquence.

Pour des séquences d'étalonnage explicites, les échantillons d'étalonnage sont introduits dans la séquence sans aucune valeur d'intervalle entré dans le tableau de séquence. Un ré-étalonnage est effectué une fois pour chaque entrée d'échantillon d'étalonnage présent dans le tableau de séquence.

Séquences d'étalonnage cycliques à un seul point

Ce type de séquence utilise le même flacon, c'est-à-dire l'échantillon d'étalonnage à intervalles réguliers dans la séquence.

La valeur de l'intervalle entré dans le tableau de séquence détermine comment est fait le ré-étalonnage. Par exemple, une valeur d'intervalle de 2 procèdera à un ré-étalonnage tous les deux flacons d'échantillon dans la séquence.

Séquences d'étalonnage cycliques multipoints

Ce type de séquence utilise différents échantillons d'étalonnage pour ré-étalonner une méthode étalonnée multipoints.

L'exemple suivant décrit une séquence à deux méthodes A et B pour analyser deux groupes d'échantillons. Les deux méthodes sont des méthodes d'étalonnage multipoints qui se ré-étalonneront automatiquement à intervalles définis.

Pour chaque méthode, le tableau de séquence comporte trois entrées :

- Deux points d'étalonnage :
 - Lignes de séquence 1 et 2 dans Méthode A.
 - Lignes de séquence 8 et 9 dans Méthode B.
- Cinq entrées pour les échantillons :
 - Lignes de séquence 3 à 7 dans Méthode A.
 - Lignes de séquence 10 à 14 dans Méthode B.

Les étalonnages sont spécifiés à intervalles réguliers par l'entrée "Recalibration Interval" dans le tableau de ré-étalonnage de séquence.

- Méthode A ré-étalonnera tous les deux échantillons.
- Méthode B ré-étalonnera tous les trois échantillons.

Le tableau de séquence ci-dessous est tronqué pour simplifier l'exemple.

Tableau 15 Tableau de séquence pour la Méthode A et la Méthode B

Ligne	Flacon	Nom échantil.	Nom méthode	Inj/ Flacon	Type échantillon	Point étalon.	M à J RF	M à J RT	Intervalle	...
1	1		Méthode A	1	Etalonnage	1	Moyenne	Pas de m.à.j	2	...
2	2		Méthode A	1	Etalonnage	2	Moyenne	Pas de m.à.j	2	...
3	10		Méthode A	1						...
4	11		Méthode A	1						...
5	12		Méthode A	1						...
6	13		Méthode A	1						...

Tableau 15 Tableau de séquence pour la Méthode A et la Méthode B (suite)

Ligne	Flacon	Nom échantil.	Nom méthode	Inj/ Flacon	Type échantillon	Point étalon.	M à J RF	M à J RT	Intervalle	...
7	14		Méthode A	1						...
8	3		Méthode B	1	Etalonnage	1	Moyenne	Pas de m.à.j	3	...
9	5		Méthode B	2	Etalonnage	2	Moyenne	Pas de m.à.j	3	...
10	20		Méthode B	1						...
11	21		Méthode B	1						...
12	22		Méthode B	1						...
13	23		Méthode B	1						...
14	24		Méthode B	1						...

Ordre d'analyse de Méthode A

Cette section décrit l'ordre d'analyse pour la Méthode A qui est la première partie de la séquence à deux méthodes.

Tableau 16 Ordre d'analyse de Méthode A

No inj.	Méthode	Flacon	Opération
1	Méthode A	1	Point d'étalonnage 1 et rapport
2	Méthode A	2	Point d'étalonnage 2 et rapport
3	Méthode A	10	Analyse d'échantillon et rapport
4	Méthode A	11	Analyse d'échantillon et rapport
5	Méthode A	1	Point d'étalonnage 1 et rapport
6	Méthode A	2	Point d'étalonnage 2 et rapport
7	Méthode A	12	Analyse d'échantillon et rapport
8	Méthode A	13	Analyse d'échantillon et rapport
9	Méthode A	1	Point d'étalonnage 1 et rapport
10	Méthode A	2	Point d'étalonnage 2 et rapport
11	Méthode A	14	Analyse d'échantillon et rapport

Ordre d'analyse de Méthode B

Cette section décrit l'ordre d'analyse pour la Méthode B qui est la seconde partie de la séquence à deux méthodes.

Méthode B présente les différences suivantes par rapport à Méthode A :

- Il y a deux injections par flacon pour le point d'étalonnage 2. La valeur d'intervalle entré est définie à 3.

Tableau 17 Ordre d'analyse Méthode B

No inj.	Méthode	Flacon	Opération
12	Méthode B	3	Point d'étalonnage 1 et rapport
13	Méthode B	5	Point d'étalonnage 2 et rapport
14	Méthode B	5	Point d'étalonnage 2 et rapport
15	Méthode B	20	Analyse d'échantillon et rapport
16	Méthode B	21	Analyse d'échantillon et rapport
17	Méthode B	22	Analyse d'échantillon et rapport
18	Méthode B	3	Point d'étalonnage 1 et rapport
19	Méthode B	5	Point d'étalonnage 2 et rapport
20	Méthode B	5	Point d'étalonnage 2 et rapport
21	Méthode B	23	Analyse d'échantillon et rapport
22	Méthode B	24	Analyse d'échantillon et rapport

Notez que les résultats présentés dans le [Tableaux 16](#) page 196 et le [Tableau 17](#) peuvent être obtenus en utilisant "Partial Sequence" pour obtenir un aperçu de l'ordre d'analyse après avoir établi le "Sequence Table" (tableau des séquences).

Etalonnages explicites et cycliques réunis

Ce type de séquence réunit dans la même séquence des étalonnages explicites et cycliques.

Vous pouvez ainsi ré-étalonner complètement la méthode au début d'une séquence (*ré-étalonnage explicite*), puis mettre à jour l'étalonnage (*ré-étalonnage cyclique*) durant la séquence.

- *Deux lignes d'étalonnage doivent être spécifiées pour chaque niveau d'étalonnage du tableau de séquence.* Une ligne correspond à l'entrée de ré-étalonnage explicite et l'autre à l'entrée de ré-étalonnage cyclique.
- Le tableau de séquence *doit* comporter des entrées pour chaque ligne d'étalonnage et tous les flacons de ré-étalonnage cyclique *doivent* apparaître avant les entrées de ré-étalonnage explicite et d'échantillon.

Exemple

Le tableau de séquence ci-dessous illustre une méthode d'étalonnage à un seul point appelée "SimpReg". Il est tronqué pour simplifier l'exemple.

Tableau 18 Tableau de séquence pour SIMPREG

1	1	SimpReg	1	Etalonnage	1	Moyenne	Moyenne	3
2	1	SimpReg	1	Etalonnage	1	Remplacer	Remplacer	
3	2	SimpReg	1					
4	3	SimpReg	1					
5	4	SimpReg	1					
6	5	SimpReg	1					
7	6	SimpReg	1					

Il existe deux entrées pour le niveau d'étalonnage unique.

- La première ligne d'étalonnage concerne le même point, mais calcule la moyenne des paramètres d'étalonnage. La valeur de l'intervalle entré spécifie que le ré-étalonnage est effectué tous les trois échantillons.
- La deuxième entrée remplace tous les paramètres de ré-étalonnage, c'est-à-dire qu'un ré-étalonnage complet est effectué. Elle ne comporte *pas* d'intervalle de ré-étalonnage.

Tableau de séquence

Le tableau des séquences contient sept lignes. La première ligne spécifie l'échantillon de ré-étalonnage cyclique. La deuxième spécifie le ré-étalonnage explicite, qui n'est effectué qu'une fois au début de la séquence. La troisième à la septième ligne spécifient les échantillons à analyser.

L'ordre des entrées dans le tableau de séquence est très important. Toutes les entrées de flacons de ré-étalonnage cyclique spécifiant un étalonnage cyclique *doivent apparaître avant* les entrées d'échantillon ou de toute entrée de ré-étalonnage explicite pour la méthode.

Ordre d'analyse SimpReg

Cette section décrit l'ordre d'analyse pour la méthode SimpReg.

Tableau 19 Ordre d'analyse SimpReg

Ligne seq.	No inj.	Méthode	Flacon	Opération
2	1	SimpReg	1	Étalonnage simple
1	2	SimpReg	1	Étalonnage normal
3	3	SimpReg	2	Analyse d'échantillon
3	4	SimpReg	3	Analyse d'échantillon
4	5	SimpReg	4	Analyse d'échantillon
5	6	SimpReg	1	Étalonnage normal
6	7	SimpReg	5	Analyse d'échantillon
7	8	SimpReg	6	Analyse d'échantillon

Séquences d'étalonnage cyclique avec délimitation

Pour représenter plus exactement la réponse de l'instrument au moment où les échantillons ont été analysés, ce type de séquence réalise une interpolation entre les étalonnages sur un ou plusieurs échantillons inconnus. En utilisant la délimitation de séquence, vous pouvez réduire les effets de la dérive de réponse de l'instrument sur le processus d'étalonnage.

Exemple

Soit la situation suivante :

- La réponse d'instrument dérive.
- Trois injections du même mélange de deux composants sont spécifiées.
- Deux injections sont spécifiées en tant qu'échantillons d'étalonnage et une en tant qu'échantillon.
- Le premier et le troisième sont des échantillons d'étalonnage.
- La seconde injection est un échantillon, voir la [Figure 39](#) page 201.

Pour obtenir un résultat quantitatif précis pour l'injection deux (l'échantillon), il faut faire une interpolation entre les deux échantillons d'étalonnage ; voir la [Figure 39](#). Ce processus est appelé délimitation.

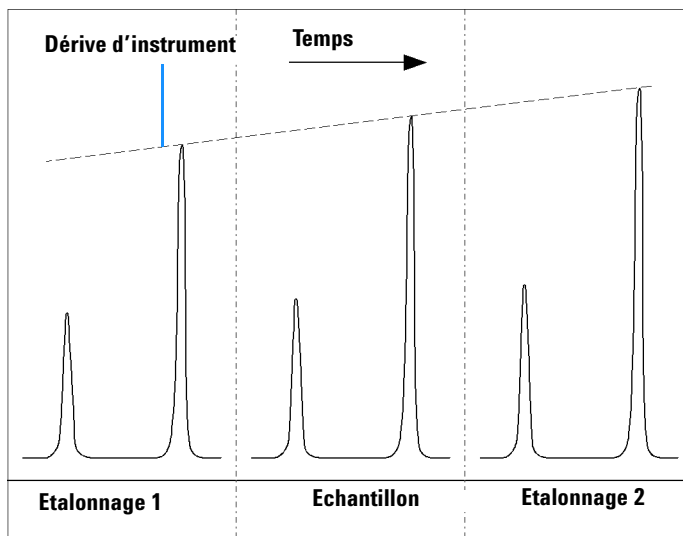


Figure 39 Délimitation

Dans une séquence étalonnée cyclique avec délimitation, le tableau d'étalonnage, utilisé pour calculer les résultats quantitatifs inconnus, est généré en calculant la moyenne des résultats de l'étalonnage en cours avec ceux de l'étalonnage précédent. Ce nouveau tableau d'étalonnage donne une représentation plus exacte de la réponse de l'instrument, au moment du passage de l'échantillon.

Fonctionnement de la séquence délimitée

- Les premiers flacons d'étalonnage sont analysés.
- Les flacons d'échantillon sont analysés.
- Les flacons d'étalonnage suivants sont analysés.
- Le tableau d'étalonnage est produit en remplaçant les facteurs de réponse existants par les nouveaux, et en calculant la moyenne des analyses d'étalonnage suivantes dans un nouveau tableau d'étalonnage.
- Les fichiers de données de flacon d'échantillon sont évalués et les rapports générés.
- La séquence revient à l'étape 2 s'il reste d'autres flacons à analyser.

Exemple

Cette section décrit un exemple de délimitation de séquence constitué d'une méthode appelée Brack.M. La méthode Brack.M est une méthode d'étalon interne à deux niveaux utilisant l'étalonnage cyclique.

Tableau de séquence

Le tableau de séquence de Brack.M (ci-après) est tronqué pour simplifier l'exemple. Il comprend sept lignes. Les deux premières lignes définissent les conditions de ré-étalonnage pour chaque point. Les lignes restantes définissent les échantillons à analyser.

Plus précisément, le tableau de séquence de la méthode Brack.M a :

- Une entrée Bracket dans la colonne "Update Response Factor" qui spécifie la délimitation des échantillons avec des échantillons d'étalonnage.
- Une entrée Replace dans la colonne "Update Retention/Migration Times" qui spécifie un remplacement des temps de rétention/migration.
- Une valeur de l'intervalle entré de 3 dans la colonne "Recalib Interval" qui spécifie le ré-étalonnage tous les trois échantillons.

Tableau 20 Tableau de séquence pour BRACK-M

1	1	BRACK-M	2	Etalonnage	1	Délimiter	Remplacer	3
2	2	BRACK-M	2	Etalonnage	2	Délimiter	Remplacer	3
3	10	BRACK-M	1					
4	11	BRACK-M	1					
5	12	BRACK-M	1					
6	13	BRACK-M	1					
7	14	BRACK-M	1					

Ordre d'analyse de séquence délimitée

Run No.	Method Name	Vial No.	Inj No.	DataFile Name	Lvl No.	Upd RF	Upd Ret	Operation
1	Brack.M	1	1	c1-03001.d	1	R	R	Report for Calibration Run No.1
2	Brack.M	1	2	c1-03002.d	1	A	R	Report for Calibration Run No.2
3	Brack.M	2	1	c2-03001.d	2	R	R	Report for Calibration Run No.3
4	Brack.M	2	2	c2-03002.d	2	A	R	Report for Calibration Run No.4
5	Brack.M	10	1	010-0301.d				Print Calibration Table
6	Brack.M	11	1	011-0301.d				Sample Analysis, no report
7	Brack.M	12	1	012-0301.d				Sample Analysis, no report
8	Brack.M	1	1	c1-03003.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
9	Brack.M	1	2	c1-03004.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
10	Brack.M	2	1	c2-03003.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
11	Brack.M	2	2	c2-03004.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
				010-0301.d				Print Calibration Table
				011-0301.d				Report for Sample Run No.5
				012-0301.d				Report for Sample Run No.6
				c1-03003.d	1	R		Report for Sample Run No.7
				c1-03004.d	1	A		Report for Calibration Run No.8
				c2-03003.d	2	R		Report for Calibration Run No.9
				c2-03004.d	2	A		Report for Calibration Run No.10
12	Brack.M	13	1	013-0301.d				Report for Calibration Run No.11
13	Brack.M	14	1	014-0301.d				Sample Analysis, no report
14	Brack.M	1	1	c1-03005.d	1	A	R	Sample Analysis, no report
15	Brack.M	1	2	c1-03006.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
16	Brack.M	2	1	c2-03005.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
17	Brack.M	2	2	c2-03006.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
				013-0301.d				Print Calibration Table
				014-0301.d				Report for Sample Run No.12
				c1-03005.d	1	R		Report for Sample Run No.13
				c1-03006.d	1	A		Report for Calibration Run No.14
				c2-03005.d	2	R		Report for Calibration Run No.15
				c2-03006.d	2	A		Report for Calibration Run No.16
								Report for Calibration Run No.17

Where A = average
R = Remplacer

Séquences de ré-étalonnage cycliques avec plusieurs flacons contenant un étalon dilué dans les mêmes proportions

Séquence de ré-étalonnages cycliques avec utilisation de flacon d'étalonnage en essai circulaire "Round-Robin"

Lorsque vous lancez une séquence étendue comportant des ré-étalonnages cycliques, ce qui signifie, la réalisation d'un ré-étalonnage automatique après un nombre défini d'injections d'échantillon, le risque de vider le contenu du flacon d'étalonnage pendant l'exécution de la séquence existe. Le tableau des séquences de la ChemStation vous donne la possibilité d'utiliser une série de flacons contenant un étalon dilué dans les mêmes proportions en un cycle d'injections *en boucle (round-robin)*.

Grâce à cette possibilité, vous pouvez définir des séquences importantes avec des ré-étalonnages automatiques à intervalles pré-définis et utilisant plusieurs flacons d'étalonnage pour chaque niveau ; et chaque flacon d'étalonnage sera utilisé dans la même mesure.

En définissant un nombre de flacons d'étalonnage approprié, il est même possible de s'assurer que chaque flacon d'étalonnage ne sera utilisé qu'une seule fois. Ceci correspond à une demande importante dans les cas où un flacon d'étalonnage neuf est requis pour chaque étalonnage, parce que, par exemple l'analyte s'évapore une fois le septum percé ou commence à se dégrader après qu'il ait été en contact avec l'aiguille en acier. La section suivante décrit comment la table de séquence de la ChemStation doit être définie pour répondre à ces exigences.

Déterminez, en fonction de l'utilisation du produit d'étalonnage pour la totalité de la séquence, le nombre total de flacons d'étalonnage nécessaires pour chaque niveau.

Définissez une ligne de ré-étalonnage cyclique pour chaque flacon d'étalonnage. Les lignes définies pour le même niveau d'étalonnage doivent être contiguës dans la séquence et les positions de flacons définies doivent également être contiguës. Choisissez un intervalle de ré-étalonnage identique pour toutes les lignes d'étalonnage. Par exemple, si vous désirez que votre séquence effectue un nouveau ré-étalonnage chaque fois que 6 échantillons ont été injectés, réglez l'intervalle de ré-étalonnage sur 6.

8 Automatisation

Séquences de ré-étalonnage cycliques avec plusieurs flacons contenant un étalon dilué dans les mêmes proportions

Tableau 21 Séquence de ré-étalonnages cycliques comportant 3 flacons définis pour chaque niveau

Flacon No.	Nom de l'échantillon	Type d'échantillon	Nom de la méthode	N° d'inj.	Niveau	Maj RT	Maj RF	Intervalle
1	Etalonnag.1a	Etalonnag.	Méthode A	1	1	Moyenne	Moyenne	6
2	Etalonnag.1b	Etalonnag.	Méthode A	1	1	Moyenne	Moyenne	6
3	Etalonnag.1c	Etalonnag.	Méthode A	1	1	Moyenne	Moyenne	6
5	Etalonnag.2a	Etalonnag.	Méthode A	1	2	Moyenne	Moyenne	6
6	Etalonnag.2b	Etalonnag.	Méthode A	1	2	Moyenne	Moyenne	6
7	Etalonnag.2c	Etalonnag.	Méthode A	1	2	Moyenne	Moyenne	6
10	Echantillon 10	Echantillon	Méthode A	6				
11	Echantillon 11	Echantillon	Méthode A	6				
12	Echantillon 12	Echantillon	Méthode A	6				
13	Echantillon 13	Echantillon	Méthode A	6				
14	Echantillon 14	Echantillon	Méthode A	6				

L'ordre de passage est :

- Flacon 1 (Etalonn.1a)
- Flacon 5 (Etalonn.2a)
- 6 injections du flacon 10 (Echantillon 10)
- Flacon 2 (Etalonn.1b)
- Flacon 6 (Etalonn.2b)
- 6 injections du flacon 11 (Echantillon 11)
- Flacon 3 (Etalonn.1c)
- Flacon 7 (Etalonn.2c)
- 6 injections du flacon 12 (Echantillon 12)
- Flacon 1 (Etalonn.1a)

Séquences de ré-étalonnage cycliques avec plusieurs flacons contenant un étalon dilué dans les mêmes proportions

- Flacon 5 (Etalonn.2a)
- 6 injections du flacon 13 (Echantillon 13)
- Flacon 2 (Etalonn.1b)
- Flacon 6 (Etalonn.2b)
- etc.

Ré-étalonnages cycliques, chaque étalonnage utilisant un flacon différent

Pour être sûr que chaque flacon d'étalonnage ne sera injecté qu'une fois, la séquence doit définir un nombre suffisant de flacons d'étalonnage différents, de façon à ce que l'ordre d'injection *en boucle (round-robin)* décrit dans l'exemple précédent ne soit pas appliqué. Par exemple, si la séquence porte sur 80 flacons d'échantillon avec un étalonnage tous les 10 échantillons, la table des séquences doit comporter $80/10 + 1 = 9$ lignes d'étalonnage pour chaque niveau.

Comme dans l'exemple précédent, les lignes d'étalonnage doivent être des lignes de séquences adjacentes faisant référence à des positions de flacons adjacentes.

Séquence délimitée utilisant des flacons différents pour ouvrir et fermer la délimitation

La même fonctionnalité est disponible pour les séquences délimitées. En définissant la gamme de flacons appropriée pour les flacons d'étalonnage, une séquence délimitée (encadrée) peut être définie de telle manière que les différents flacons d'étalonnage soient utilisés pour ouvrir et fermer les délimitations (encadrements). Dans ce cas aussi, les lignes d'étalonnage de la séquence doivent être adjacentes tout comme les positions des flacons d'étalonnage.

Que vous utilisiez ou non les flacons d'étalonnage de délimitation utilisés en mode circulaire ou pour une injection unique, ne dépend que du nombre total de flacons d'échantillonnage pour chaque niveau et le nombre d'étalonnages requis par la séquence.

8 Automatisation

Séquences de ré-étalonnage cycliques avec plusieurs flacons contenant un étalon dilué dans les mêmes proportions

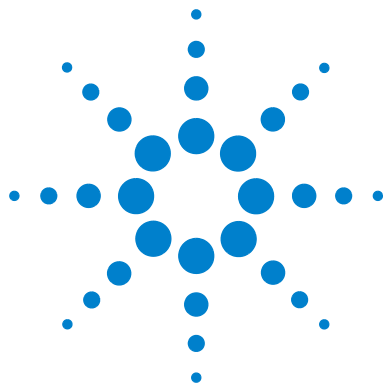
L'exemple suivant définit 3 injections d'échantillon délimitées par étalonnage. Les délimiteurs d'ouverture et de fermeture utilisent chacun un flacon d'étalonnage différent. Il est nécessaire de ré-étalonner après chaque injection d'échantillon. L'intervalle de ré-étalonnage doit donc être de 1. Pour chaque niveau, le nombre de lignes d'étalonnage correspond au nombre d'échantillons plus un.

Tableau 22 Flacons différents pour délimiteurs d'ouverture et de fermeture

Flacon No.	Nom de l'échantillon	Type d'échantillon	Nom de la méthode	N° d'inj.	Niveau	Maj RT	Maj RF	Intervalle
1	Etalonnag.1a	Etalonnag.	Méthode A	1	1	Encadrement	Encadrement	1
2	Etalonnag.1b	Etalonnag.	Méthode A	1	1	Encadrement	Encadrement	1
3	Etalonnag.1c	Etalonnag.	Méthode A	1	1	Encadrement	Encadrement	1
4	Etalonn.1d	Etalonnag.	Méthode A	1	1	Encadrement	Encadrement	1
10	Echantillon 10	Echantillon	Méthode A	1				
11	Echantillon 11	Echantillon	Méthode A	1				
12	Echantillon 12	Echantillon	Méthode A	1				

L'ordre de passage pour cette séquence est :

- Flacon 1 (Etalonn.1a), limite inférieure de l'encadrement 1
- Flacon 10 (Echantillon 10)
- Flacon 2 (Etalonn.1b), limite supérieure de l'encadrement 1 et limite inférieure de l'encadrement 2
- Flacon 11 (Echantillon 11)
- Flacon 3 (Etalonn.1c), limite supérieure de l'encadrement 2 et limite inférieure de l'encadrement 3
- Flacon 12 (Echantillon 12)
- Flacon 4 (Etalonn.1d), limite supérieure de l'encadrement 3.



9

La revue des lots

Qu'est-ce que la revue d'un lot ? [210](#)

La configuration d'un lot [211](#)

Table d'un lot [211](#)

Table des composés [212](#)

Rapport de lot [212](#)

Interface utilisateur [213](#)

Les fonctions de revue [214](#)

Étalonnage en revue des lots [214](#)

Les rapports de la revue de lot [215](#)

Historique des lots [215](#)



Qu'est-ce que la revue d'un lot ?

La revue d'un lot est la possibilité donnée à l'analyticien de traiter rapidement et facilement dans un "premier passage" les résultats d'une séquence ou d'une série d'échantillons. Ceci lui permettra de gagner du temps surtout lorsqu'il lui faudra revoir un grand nombre de résultats. Pendant l'exécution d'une séquence, un fichier "batch" (avec une extension .b) est automatiquement créé et placé dans le répertoire "data" avec les fichiers de données brutes. Ce fichier "batch" contient des pointeurs correspondant aux différentes analyses à l'intérieur de la revue de lot elle-même. Au chargement du lot, l'opérateur ne choisit que la méthode à utiliser pour le "batch", puis sélectionne un à un les fichiers de données à traiter dans le lot. On peut vérifier la précision de l'étalonnage, les performances de l'instrument et les intégrations individuelles avant d'approuver les résultats. Toute modification spécifique des paramètres d'intégration d'un chromatogramme peut être stockée avec les données pour la traçabilité. Cet environnement interactif fournit également un accès total à toutes les autres possibilités de traitement des données, comme la pureté des pics, la recherche en bibliothèque etc.

La revue d'un lot utilise les mêmes registres d'analyse de données (ChromReg et ChromRes) que le traitement standard des données et ne doit, de ce fait, pas être utilisé en même temps qu'une session de retraitement en ligne.

La configuration d'un lot

Un lot est une série de fichiers de données choisis par l'opérateur et devant être traités par une méthode définie par lui. Tous les fichiers de données d'un lot sont traités par la même méthode. Les différentes étapes de l'étalonnage d'un lot sont mises en oeuvre chaque fois qu'un échantillon est chargé, elles peuvent être choisies (intégration, identification/quantification, gestion des rapports).

Toutes les analyses d'étalonnage utilisées dans la revue d'un lot sont destinées à ne produire qu'une seule table d'étalonnage, en calculant la moyenne des facteurs de réponse, cette dernière sera utilisée pour la quantification.

Table d'un lot

Les analyses sont placées dans une table de lots configurée par l'utilisateur :

- le nombre et le contenu des colonnes de la table peuvent être spécifiés ;
- les analyses peuvent être triées par :
 - indice chronologique d'analyse (ordre dans lequel les analyses ont été effectuées) indépendamment de tout autre critère,
 - type d'échantillon (échantillons de contrôle d'abord, puis les échantillons d'étalonnage, enfin les échantillons normaux) ensuite par ordre chronologique à l'intérieur de chaque catégorie,
 - méthode (si plus d'une méthode a été utilisée pour acquérir les données d'analyse) ensuite par indice chronologique d'analyse à l'intérieur de chaque méthode ;
- les échantillons, les échantillons d'étalonnage et les échantillons de contrôle peuvent apparaître dans la table ou demeurer cachés.

Chaque analyse sélectionnée occupe une ligne dans la table de lots. Vous pouvez annuler l'affichage d'une analyse dans la table de lots en changeant son type d'échantillon en Removed (enlevé).

Table des composés

Les résultats des composés apparaissent dans une table de composés pré-configurée par l'opérateur, son contenu est fonction du type d'échantillons de la table de lots :

- la liste des composés comprend tous ceux trouvés par la méthode chargée pour la revue de lot.
- si les analyses d'étalons sont les seules à apparaître dans la table de lots (échantillons et échantillons de contrôle étant cachés), la table des composés affiche des colonnes supplémentaires pour les informations concernant l'étalonnage (quantité attendue, erreurs relative et absolue).
- si seules les analyses de contrôle sont affichées dans la table de lots (échantillons et échantillons d'étalonnage étant cachés), la table des composés affiche des colonnes supplémentaires pour toutes les limites de contrôle définies.

Pour les colonnes contenant des informations spécifiques concernant les composés, il vous est possible d'inclure les noms des composés dans l'en-tête en ajoutant %s à la spécification de colonne.

Rapport de lot

Le rapport de lot comprend deux tables qui sont généralement analogues à la table de lots et à la table des composés ; ces tables sont configurables par l'opérateur.

Pour les colonnes contenant des informations spécifiques concernant les composés, il vous est possible d'inclure les noms des composés dans l'en-tête en ajoutant %s à la spécification de colonne. Les en-têtes multilignes sont permises ; il suffit d'insérer le caractère '|' au point où vous voulez aller à la ligne.

Interface utilisateur

Pour la revue par lot on dispose de deux interfaces utilisateur :

- l'interface standard comprend une ligne de boutons, ces boutons reflètent la plupart des éléments du menu "Batch", ainsi que d'autres réservés à la table de lots et à la table de composés ;
- une interface minimale comprenant la même ligne de boutons que ci-dessus, mais dans laquelle la table de lots et la table de composés sont remplacées par une boîte contenant seulement l'information spécifiée pour la table de lots. La ligne de boutons de l'interface minimale ne contient plus ceux concernant la table de lots et la table de composés.

Les fonctions de revue

Les fichiers de données peuvent être affichés de deux façons :

- manuellement, en sélectionnant chaque analyse à partir de la table,
- automatiquement, avec un intervalle pré-défini entre chaque fichier de données. Pendant l'affichage automatique, seuls les types d'échantillons présents dans la table sont présentés ; les analyses sont affichées dans le même ordre que dans la table. La revue automatique peut être arrêtée temporairement, reprise ou arrêtée.

Les fonctions standard de la ChemStation sont disponibles avec la revue de lot. Ceci comprend l'étalonnage, la manipulation manuelle des chromatogrammes, par exemple le lissage ou l'intégration manuelle. Toutes les modifications apportées à un fichier de données peuvent être notées et enregistrées avec le fichier lot. Les chromatogrammes déjà passés en revue sont annotés à l'aide d'un astérisque dans la table de lots. Vous pouvez aussi ne supprimer que les modifications effectuées sur le chromatogramme en cours, ou toutes les modifications apportées sur la totalité des chromatogrammes du lot.

Quand une analyse est chargée, les options de traitement choisies sont exécutées ; si l'analyse a déjà été traitée et les options enregistrées, c'est l'analyse recalculée qui est chargée. C'est un processus plus rapide que de devoir charger une analyse non traitée, il n'est plus nécessaire d'effectuer un traitement préalable.

Etalonnage en revue des lots

L'étalonnage en revue des lots est indépendant des paramètres de ré-étalonnage d'une table de séquence. La première étape d'un étalonnage de lot remplace toujours les entrées de réponse et de temps de rétention dans la table d'étalonnage. Pour les étalons suivants, les valeurs de réponse et de temps de rétention sont moyennées.

Les rapports de la revue de lot

La "Table d'un lot" page 211, configurable par l'utilisateur peut être envoyée directement sur l'imprimante, affichée à l'écran, ou envoyée dans un fichier avec un préfixe choisi par l'utilisateur dans un des formats suivants :

- fichier texte ASCII avec l'extension .TXT
- "Data Interchange Format" (DIF) avec l'extension .DIF
- "Comma-Separated Values" (CSV) valeurs séparées par des virgules avec l'extension .CSV
- Microsoft Excel avec l'extension .XLS.

Les options de rapport donnent aussi la possibilité de trier les échantillons (par Run Index (indice chronologique d'analyse), Sample Type (type d'échantillon) ou Method (par méthode)) indépendamment de l'ordre de tri de la table de lots. Les priorités de tri sont définies dans la "Table d'un lot" page 211.

Historique des lots

La revue de lot conserve un enregistrement de toutes les actions effectuées sur le lot en cours. Toute action de modification sur le lot (par exemple sur le chromatogramme affiché, sur le type d'échantillon, le chargement et l'enregistrement du lot) ajoute une ligne à l'historique du lot avec la date et l'heure, le nom de l'opérateur ainsi que la description de l'événement.

Vous pouvez aussi ajouter votre propre commentaire à l'historique du lot. Les entrées existantes dans l'historique ne peuvent pas être éditées, et on ne peut accéder à la liste de l'historique que par la rubrique de menu "Batch History".

9 La revue des lots

Les rapports de la revue de lot



10 Utilisation des rapports générés par la ChemStation Agilent

Qu'est-ce qu'un rapport ?	218
Rapports de résultats	219
Rapports non étalonnés	219
Rapports étalonnés	219
Rapport d'étalon externe	220
Rapport d'étalon interne	220
Rapport Control Charts	220
Résultats quantitatifs	221
Styles de rapports	223
Ajout d'un rapport personnalisé aux styles de rapports	225
Autres paramètres de style de rapport	226
Table de sommation des pics	226
Format de rapport pour les pics non étalonnés	226
Destination du rapport	227
Formats de fichiers du rapport	227
Rapports résumés de séquence	229
Généralités	229
Pour établir un rapport résumé de séquence	229



Qu'est-ce qu'un rapport ?

Un rapport peut comprendre des informations quantitatives et qualitatives sur l'échantillon que vous analysez. Le rapport peut se présenter sous la forme d'une copie papier, d'un affichage à l'écran, ou d'un fichier électronique. Il peut contenir des détails sur les pics détectés pendant l'analyse, et les tracés des signaux acquis.

Rapports de résultats

Il existe deux types de rapports :

- un rapport non étalonné qui ne corrige pas la réponse du détecteur, et
- un rapport étalonné montrant les résultats corrigés pour tenir compte de la différence dans la réponse du détecteur aux divers composés de l'échantillon.

Rapports non étalonnés

Les rapports non étalonnés incluent les rapports Aire% et Hauteur%. Ces rapports sont surtout utilisés dans la préparation des rapports étalonnés. Ils peuvent constituer un rapport final utile si les quantités des composés désirés doivent présenter une unité d'aire ou une réponse hauteur si les composés d'intérêt sont similaires.

Rapports étalonnés

Les rapports étalonnés corrigent la différence de réponse du détecteur aux différents composés. Un ou plusieurs échantillons d'étalonnage contenant des quantités connues des composés doivent être analysés dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon inconnu. Les données d'intégration provenant de cet ou ces échantillon(s) d'étalonnage sont utilisées pour préparer un tableau d'étalonnage. Il s'agit d'une liste des temps de rétention/migration, des quantités et des réponses, utilisée dans la génération du rapport. Les rapports étalonnés sont basés sur deux procédures d'étalonnage appelées étalon externe et étalon interne.

Rapport d'étalon externe

Le rapport ESTD donne les résultats avec les unités de votre choix ou avec chaque composé en pourcentage de tous les composés présents. La procédure d'étalon externe exige que le volume relatif injecté des échantillons d'étalonnage et des échantillons inconnus soit connu exactement. La fiabilité du rapport d'étalon externe est limitée par la reproductibilité de l'injection et de tous les autres facteurs susceptibles de changer d'un échantillon à un autre.

Rapport d'étalon interne

Les limites de la procédure d'étalon externe peuvent être ignorées en utilisant l'approche de l'étalon interne. Une quantité connue exactement (pas forcément la même quantité) de l'étalon interne est ajoutée aux échantillons d'étalonnage et à l'échantillon inconnu. La réponse de chaque composé concerné est divisée par la réponse de l'étalon interne, pour donner un rapport de réponse. Les courbes d'étalonnage sont une représentation graphique de ce rapport de réponse par rapport au rapport de quantité et cette information est utilisée dans le calcul des résultats rapportés. Ainsi, les erreurs involontaires dans le volume d'injection ou de légers changements intervenant dans le système chromatographique/électrophérogaphique qui affectent tous les composés de la même manière, sont éliminés. Le rapport ISTD donne les résultats avec les unités de votre choix.

Rapport Control Charts

Le rapport Control Charts recherche parmi les résultats de plusieurs analyses un résultat unique correspondant à un composé étalonné spécifique. La fonction Control Chart doit être installée quand la ChemStation est déjà opérationnelle. Le résultat recherché est exporté dans une feuille de travail Microsoft Excel après chaque analyse. Le rapport est ensuite imprimé en format Excel.

Résultats quantitatifs

Le type de rapport est identifié par le nom de la méthode de calcul utilisée pour le préparer, par exemple, un rapport ISTD. Chaque type est décrit brièvement ci-après. Les méthodes de calcul pour chaque type de rapport sont données dans le [Chapitre 5](#), “Quantification”.

Aire% fournit le rapport le plus simple et ne requiert aucune donnée d'étalonnage puisqu'il n'y a pas de correction pour la différence de réponse du détecteur aux composés de l'échantillon. Le rapport Aire% est particulièrement utile dans le développement d'un tableau d'étalonnage destiné aux autres options du rapport. Il convient aux analyses dans lesquelles la différence de réponse du détecteur aux différents composés n'est pas significative.

Hauteur% donne un rapport similaire au rapport Aire%, à cela près que la hauteur du pic, et non l'aire du pic, est utilisée pour les calculs.

Norm% donne un rapport dans lequel chaque composé est rapporté en pourcentage de tous les composés présents. Les pics sont corrigés pour la réponse du détecteur avant le calcul du pourcentage de chacun.

ESTD produit un rapport de la quantité réelle de chaque substance, dans l'unité de votre choix. Les quantités sont calculées en utilisant un tableau d'étalonnage établi précédemment. L'utilisation d'un étalon externe requiert que le volume injecté du mélange d'étalonnage soit connu.

ESTD% produit un rapport de la quantité relative de chaque substance en pourcentage de l'échantillon injecté. Les quantités sont calculées en utilisant un tableau d'étalonnage établi précédemment. L'utilisation d'un étalon externe requiert que le volume injecté du mélange d'étalonnage soit connu.

ISTD produit un rapport de la quantité réelle de chaque substance. Les quantités sont calculées en utilisant une courbe d'étalonnage établie précédemment. L'utilisation d'un étalon interne dans l'échantillon et dans le mélange d'étalonnage dispense de connaître et de contrôler le volume d'échantillon injecté. Cette technique corrige également tout écart éventuel de performance de l'instrument entre les analyses.

ISTD% établit un rapport de la quantité relative de chaque composé exprimé en pourcentage de l'échantillon injecté. L'utilisation d'un étalon interne dans l'échantillon et dans le mélange d'étalonnage dispense de connaître et de contrôler le volume d'échantillon injecté. Cette technique corrige également tout écart éventuel de performance de l'instrument entre les analyses.

Styles de rapports

Les styles de rapports suivants sont disponibles :

Pour ajouter un signal à l'un des styles de rapport, il vous suffit de cocher la case appropriée dans la boîte de dialogue Specify Report.

- **None** Aucun texte n'apparaîtra sur le rapport. Le chromatogramme y figurera seulement si l'option "Add Chromatogram Output" est sélectionnée.
- **Short** Comprend des résultats quantitatifs sous forme de texte de tous les signaux intégrés établis dans la boîte de dialogue Signal Details (CPL seulement) ou la boîte de dialogue Signal (CPG seulement).

La largeur de pic dans le rapport abrégé est calculée par la formule plus complexe utilisée par l'intégrateur :

$$PW = 0.3(IPRight - IPLLeft) + 0.7(Area/Height)$$

où IPRight et IPLLeft sont les points d'inflexion.

- **Detail** Comprend l'en-tête, les résultats quantitatifs et les courbes d'étalonnage. L'en-tête est stocké dans un fichier appelé RPTHEAD.TXT dans le répertoire des méthodes. Pour inclure un texte spécifique à la méthode, vous pouvez changer l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte.
- **Header + Short** Comprend l'en-tête du fichier et les résultats quantitatifs sous forme de texte. L'en-tête est stocké dans un fichier appelé RPTHEAD.TXT dans le répertoire des méthodes. Pour inclure un texte spécifique à la méthode, vous pouvez changer l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte.
- **GLP + Short** Comprend l'en-tête, les informations d'échantillon, les conditions d'instrument, le journal, le signal, et les résultats quantitatifs. L'en-tête est stocké dans un fichier appelé RPTHEAD.TXT dans le répertoire des méthodes. Pour inclure un texte spécifique à la méthode, vous pouvez changer l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte.
- **GLP + Detail** Comprend l'en-tête, les informations d'échantillon, les conditions d'instrument, le journal, le signal, les résultats quantitatifs et les courbes d'étalonnage. L'en-tête est stocké dans un fichier appelé RPTHEAD.TXT dans le répertoire des méthodes. Pour inclure un texte spécifique à la méthode, vous pouvez changer l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte.

- **Full** comprend l'en-tête, les informations sur l'échantillon, les conditions instrumentales, le journal, les signaux et les résultats quantitatifs. L'en-tête est stocké dans un fichier appelé RPTHEAD.TXT dans le répertoire des méthodes. Pour inclure un texte spécifique à la méthode, vous pouvez changer l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte.
- **Performance** Produit un rapport d'après les limites spécifiées dans la boîte de dialogue "Edit Performance Limits" du menu "System Suitability".

Pour les méthodes non étalonnées, les paramètres du rapport incluent le numéro du pic, le temps de rétention/migration, l'aire et la hauteur du pic, la description du signal, la vraie largeur du pic à mi-hauteur, (voir également "[Largeur de pic vraie Wx \[min\]](#)" à la page 248) la symétrie, k', l'efficacité (plateaux) et la résolution pour chaque pic.

Pour les méthodes étalonnées, les paramètres du rapport incluent le numéro du pic, le temps de rétention/migration, le nom du composé, la quantité, la description du signal, la vraie largeur du pic à mi-hauteur, la symétrie, k', l'efficacité (plateaux) et la résolution pour chaque pic.

Le calcul de pic à mi-hauteur n'est pas le même que la formule de largeur de pic plus complexe utilisée par l'intégrateur. Les valeurs d'efficacité et de résolution sont basées sur cette largeur du pic calculée. L'en-tête du rapport est constitué de toutes les informations pertinentes pour la méthode, y compris l'instrument, la colonne/le capillaire, l'échantillon et les paramètres d'acquisition. Le signal est également tracé.

- **Performance + Noise** Combine le style de rapport Performance avec les calculs de bruit pour les gammes de bruit définies dans la boîte de dialogue "Edit Noise Range" du menu "System Suitability". En plus du bruit, donné comme six fois l'écart type, pic à pic, et bruit ASTM, la dérive et les variations à moyen terme sont aussi déterminées.
- **Performance + Extended** Produit un rapport étendu avec tous les paramètres provenant des calculs de performance des pics et des tracés individuels de chaque pic. Les tracés incluent la ligne de base, les tangentes et les largeurs de pic à des hauteurs définies. Ce type de rapport n'inclut que des pics étalonnés.

En plus des paramètres imprimés pour le style de rapport "Performance", d'autres paramètres de performance des pics (Peak Performance Parameters) sont déterminés : le temps de rétention du pic de début et de fin, l'inclinaison, l'excès, la largeur de pic, le facteur de traîne USP, l'intervalle de temps

entre les points de données, le nombre de points de données, les moments statistiques, les plateaux, les plateaux par mètre, la sélectivité et la résolution de chaque pic sont imprimés. La largeur de pic, les nombres de plateaux absolu et relatif, la sélectivité et la résolution sont calculées à l'aide de la largeur à mi-hauteur vraie, du 5 sigma, et des méthodes d'intégrations tangentielles et de traîne (pour en savoir plus, consultez le paragraphe "Définitions des tests de performances" à la page 246).

L'en-tête du rapport comprend toutes les informations pertinentes pour la méthode, telles que l'instrument, la colonne/le capillaire, l'échantillon et les paramètres d'acquisition, et un tracé du signal. Pour une liste complète des algorithmes de paramètres de performance des pics, voir "Définitions des tests de performances" à la page 246.

Les styles de rapports spectraux (**Short + Spectrum, Detail + Spectrum, Performance + Library Search**) sont décrits dans *Comprendre votre module d'analyse spectrale*.

Ajout d'un rapport personnalisé aux styles de rapports

Vous pouvez ajouter un modèle de rapport personnalisé, créé par vous, dans la liste des styles de rapports disponibles, dans la vue Report Layout de la ChemStation.

REMARQUE

Tous les types de rapport sauf le rapport de performance donnent la liste des largeurs de pics calculées par l'intégrateur à l'aide d'une formule plus complexe (pour connaître le détail du calcul de la largeur des pics consultez la section "Largeur du pic" à la page 88).

Autres paramètres de style de rapport

Table de sommation des pics

Le tableau d'addition des pics est fourni pour certaines applications dans les industries pétrolière et pharmaceutique et peut être mieux utilisé avec les possibilités suivantes :

- Sommation des aires des pics dans une gamme spécifiée par l'utilisateur,
- Sommation des aires d'une gamme de pics, calculés avec le même multiplicateur,
- Sommation des aires de tous les pics portant le même nom.

Lorsque le rapport est généré, la ChemStation utilise la table de sommation des pics pour produire un rapport de sommation des pics imprimé d'après le calcul du rapport standard sauf le Norm% qui est remplacé par le rapport de sommation des pics.

Format de rapport pour les pics non étalonnés

Pour modifier le format de rapport pour les pics non étalonnés, choisissez l'une des options suivantes dans la boîte de dialogue Specify Report.

- Séparément, pour générer un rapport de pics non étalonnés à l'intérieur d'un tableau distinct si vous voulez les classer par temps de rétention/migration, ou dans des tableaux distincts si vous voulez les classer par signal.
- Sélectionnez la fonction Calibrated Peaks pour générer un rapport comportant les pics non étalonnés et les pics étalonnés.
- Choisissez Not Report pour supprimer la génération d'un rapport de pics non étalonnés.

Destination du rapport

Le rapport peut être envoyé :

- à l'écran

Le rapport (constitué de texte et de graphiques) est affiché à l'écran dans la fenêtre de prévisualisation des rapports, à partir de laquelle il peut être imprimé.

- sur l'imprimante

Le rapport, constitué de texte et de graphiques, est imprimé sur l'imprimante sélectionnée.

- dans un fichier

Le rapport est enregistré dans un fichier. Si les données sont enregistrées dans un fichier, il est possible de les réutiliser avec un autre programme, par exemple, EXCEL de Microsoft Windows.

Formats de fichiers du rapport

Un rapport peut être enregistré sous quatre formats différents. Chaque format a une extension spécifique. Il est possible de sélectionner plus d'un format pour un rapport.

.TXT Le texte du rapport est imprimé dans un fichier-texte ASCII.

.WMF Chaque graphique du rapport (signal ou courbe d'étalonnage) est enregistré dans un métafichier Microsoft Windows (WMF). Un rapport peut comporter plusieurs .WMF. Le format du fichier généré est conforme au format métafichier standard Microsoft tel que défini dans la documentation de développement de logiciel sous Windows. Ces fichiers sont compatibles avec le format Aldus Placeable Metafile (APM) utilisé par de nombreux logiciels propriétaires.

.DIF Les données de rapport tabulaire sont enregistrées en Data Interchange Format (DIF). Ce format est accepté par les principaux tableurs tels que Microsoft Windows EXCEL. Indépendamment du style de rapport sélectionné, seule l'information contenue dans le style de rapport "Short" sera enregistrée.

.CSV Le rapport est au format Comma Separated Values (CSV) (valeurs séparées par des virgules). Il s'agit d'un format très simple pour des données tabulaires, accepté par de nombreux tableurs et bases de données. Indépendamment du style de rapport sélectionné, seule l'information contenue dans le style de rapport "Short" sera enregistrée.

Il peut y avoir plusieurs fichiers .DIF et .CSV pour un même rapport. Pour chaque bloc du rapport, le premier fichier, par exemple : REPORT00.CSV, contient les informations d'en-tête du rapport. Les fichiers suivants contiennent les résultats tabulaires.

Si les résultats sont triés par temps de rétention/migration, un seul fichier est requis pour le tableau complet, par exemple : REPORT01.CSV.

Si les résultats sont triés par signal, un tableau séparé est requis pour chaque signal. Dans ce cas, les fichiers sont nommés de Report01.CSV à ReportNN.CSV, où NN est le numéro du signal.

.XLS Le rapport est exporté dans un tableau au format (XLS) Excel de Microsoft. En général, les données nécessitent un traitement supplémentaire.

Rapports résumés de séquence

Généralités

La ChemStation peut imprimer divers rapports standard pour des analyses d'échantillon individuel. Le rapport résumé de séquence est une méthode supplémentaire de création de rapport qui vous permet de calculer et de rapporter des paramètres sur plusieurs analyses différentes. Par exemple, il est utile de tester la stabilité de l'instrument ou la fiabilité d'une nouvelle méthode.

Un rapport résumé de séquence peut inclure :

- une page de titre,
- la configuration de l'instrument, y compris ses numéros de version et les détails de la colonne/le capillaire analytique utilisé(e),
- la liste du tableau de séquence qui décrit ce que la séquence automatisée des analyses aurait dû faire,
- les descriptions du journal sur ce que les séquences ont fait en réalité et les éventuels événements inattendus survenus pendant la séquence,
- les listes des méthodes,
- les rapports individuels de chaque échantillon,
- les statistiques sur les analyses basées sur les critères sélectionnés.
Les statistiques ne sont calculées que pour les composés étalonnés, et
- un sommaire avec des numéros de pages faisant référence aux sections détaillées du rapport.

Pour établir un rapport résumé de séquence

Lors de l'établissement d'un rapport résumé des séquences, en cochant les cases appropriées et, le cas échéant, en sélectionnant un style de rapport dans "template", vous pouvez sélectionner toute combinaison des neuf catégories suivantes que vous voulez voir figurer dans le rapport. Chaque modèle (template) spécifie le contenu et la présentation de cette section particulière du rapport résumé de séquence complet.

Vous pouvez choisir l'un des styles de rapport résumé de séquence suivants :

One Page Header

Le modèle GLP (bonnes pratiques de laboratoire) imprime GLP en grandes lettres comme page de titre pour le rapport suivant. Il comporte également la date et un emplacement pour une signature.

Configuration

Sélectionnez Configuration si vous voulez inclure dans le rapport la configuration de l'instrument et les spécifications de colonnes/le capillaire analytiques.

Sequence Table

Sélectionnez Sequence table pour inclure dans le rapport une liste des échantillons, les paramètres de quantification et les noms de méthodes. Cette liste correspond à ce que le système aurait dû analyser.

Logbook

Sélectionnez Logbook pour obtenir la liste des analyses effectuées par le système, y compris les conditions d'instrument et les éventuels événements inhabituels survenus pendant l'analyse des échantillons.

Méthodes

Sélectionnez Methods pour obtenir la liste de toutes les méthodes analytiques utilisées dans la série des analyses automatisées.

Analysis Reports

Sélectionnez Analysis pour obtenir les rapports d'analyse individuels d'après le style de rapport défini pour la méthode.

Les rapports analytiques individuels peuvent s'imprimer après chaque analyse, d'après le style de rapport spécifié pour la méthode en question, en plus des sections du rapport spécifiées dans le rapport résumé des séquences. Voir la ["Spécification de sortie"](#) à la page 232.

Statistics for Calibrated and Sample Runs

En sélectionnant Statistics cal. runs, vous obtiendrez les analyses de tendances statistiques pour les échantillons d'étalonnage. En sélectionnant Statistics, vous produirez les analyses de tendances statistiques pour les analyses d'échantillons (inconnus). Les deux sélections comprennent les styles de modèle "Standard Statistic" et "Extended Statistic". Extended Statistics imprime les tendances statistiques des analyses sous forme de graphes, tandis que Standard Statistics n'imprime que du texte.

Les sélections que vous faites dans la boîte de dialogue "Items and Limits for Extended Statistics" ne sont utilisées que lorsque vous choisissez la ou les option(s) Extended Statistics dans la boîte de dialogue "Sequence Summary Parameters".

Si vous choisissez la ou les option(s) "Standard Statistic" dans la boîte de dialogue "Sequence Summary Parameters", les statistiques suivantes sont rapportées :

- les temps de rétention/migration,
- aire,
- hauteur,
- quantité,
- largeur de pic (selon le style de rapport, voir ["Styles de rapports"](#) à la page 223) et symétrie.

Le calcul statistique ne fait pas la distinction entre les différents points d'étalonnage dans une séquence qui utilise les méthodes d'étalonnage multipoints. Cela signifie que les éléments dépendant de la concentration (Aire, Hauteur, Quantité, voir la boîte de dialogue Items and Limits for Extended Statistics) sont tous pris ensemble, quel que soit le point d'étalonnage. Les valeurs statistiques pour les analyses d'étalonnage ne sont par conséquent pas utiles pour des méthodes d'étalonnage multipoints dans les séquences.

Summary

La sélection Summary imprime une vue d'ensemble des séries d'échantillons analysées et des méthodes utilisées. Si le choix Summary accompagne d'autres sélections Sequence Summary, les numéros de pages faisant référence aux autres parties du rapport sequence summary sont inclus.

Il existe deux styles Summary :

Le "Sample Summary" présente sous forme de tableau les détails des analyses d'échantillon effectuées dans la séquence, avec certaines informations d'échantillon telles que le nom de l'échantillon, le nom du fichier de données, le numéro de la méthode et du flacon.

Le "Compound Summary" présente sous forme de tableau, les analyses d'échantillon avec les résultats de quantification de base pour chaque composé étalonné, ou chaque pic, selon la méthode.

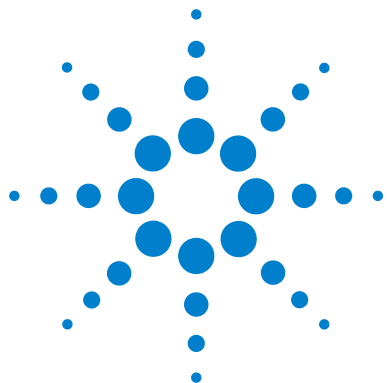
Spécification de sortie

Dans la boîte de dialogue Sequence output, vous pouvez aussi définir où doit s'imprimer le rapport résumé des séquences.

En sélectionnant "Report to file" et en entrant un nom de fichier, vous envoyez le rapport dans le fichier spécifié. Par défaut, les données sont enregistrées dans le fichier GLPrpt.txt. Dans les systèmes CPG avec double injection, les données sont enregistrées dans GLPrptF.txt (injecteur avant F pour Front) et GLPrptB.txt (injecteur arrière B pour Back).

En sélectionnant Report to printer, vous imprimez le rapport sur l'imprimante du système.

"Print individual reports for each run" active aussi l'impression de rapports d'échantillon après chaque analyse. Ces rapports viendront s'ajouter à ceux spécifiés pour le rapport résumé des séquences, produits à la fin de la séquence globale. Vous pouvez spécifier une nouvelle destination pour ces rapports dans la boîte de "Sequence Output", ou bien utiliser la destination spécifiée dans les méthodes individuelles.



11 Evaluation de l'adéquation du système

Détermination du bruit	237
Calcul de bruit avec six fois l'écart type	237
Calcul de bruit par la formule de pic à pic	238
Calcul de bruit par la méthode ASTM	239
Calcul de rapport signal sur bruit	241
Calcul de la symétrie des pics	242
Dérive et variation à moyen terme	241
Formules et calculs de vérification de performance du système	244
Définitions générales	245
Définitions des tests de performances	246
Volume mort	245
Temps de rétention du composant non retenu t_r [min]	245
Moments statistiques	246
Largeur de pic vraie W_x [min]	248
Moments statistiques, inclinaison et excès	247
Facteur de capacité (USP), Rapport de capacité (ASTM) k'	248
Facteur de traîne USP (USP) t	248
Nombre de plateaux théoriques par colonne (USP, ASTM) n	249
Nombre de plateaux théoriques par mètre N [1/m]	250
Rétention relative (USP, ASTM), Sélectivité Alpha	251
Définitions pour la reproductibilité	253
Résolution (USP, ASTM) R	251
Moyenne de l'échantillon M	253
Echantillon Ecart type S	254
Coefficient de variation RSD[%] (USP)	254
Écart type de la moyenne SM	254
Confiance CI	255
Coefficient de régression	257



Analyse de régression 256

Accès aux nombres internes enregistrés en double précision 258

Ecart type (S) 257

Il est fortement conseillé d'évaluer la performance, d'une part de l'instrument analytique avant de l'utiliser pour l'analyse d'échantillons, et d'autre part de la méthode analytique avant de généraliser son utilisation. Il est également conseillé de vérifier la performance des systèmes d'analyse avant et pendant l'analyse de routine. Le logiciel ChemStation possède les outils permettant d'effectuer automatiquement ces trois types de test. Un test d'instrument peut inclure la sensibilité du détecteur, la précision des temps de rétention/migration du pic et la précision des aires du pic. Un test de méthode peut porter sur la précision des temps de rétention/migration et des quantités, la sélectivité, et la robustesse de la méthode par rapport aux écarts quotidiens en fonctionnement. Un test du système peut inclure la précision des quantités, la résolution entre deux pics spécifiques et la traîne des pics.

Les laboratoires qui doivent se conformer aux :

- bonnes pratiques de laboratoire (BPL),
- bonnes pratiques de fabrication (BPF) et Bonnes pratiques de fabrication courantes (BPFc), et
- bonnes pratiques de laboratoire automatisées (BPLA).

Les laboratoires sont invités à effectuer ces tests et à documenter les résultats de manière détaillée. Les laboratoires de contrôle de qualité, par exemple pour se conformer à la certification ISO 9000, devront démontrer que leurs instruments sont en état de fonctionnement normal.

La ChemStation recueille les résultats de plusieurs analyses et les évalue statistiquement dans le rapport résumé des séquences.

Les tests sont documentés dans un format généralement accepté par les organismes officiels et les auditeurs indépendants. Les statistiques portent sur :

- temps de rétention/migration de pics,
- l'aire des pics,
- la quantité,

- la hauteur des pics,
- la largeur des pics à mi-hauteur,
- la symétrie des pics,
- la traîne des pics,
- le facteur de capacité (k'),
- les numéros des plateaux,
- la résolution entre les pics,
- la sélectivité par rapport au pic précédent,
- l'inclinaison, et
- l'excès.

La valeur moyenne, l'écart type, le coefficient de variation et l'intervalle de confiance sont calculés. Vous pouvez définir des limites pour l'écart type, pour le coefficient de variation, ou pour l'intervalle de confiance pour chacun de ces paramètres. Si les valeurs dépassent les limites que vous avez fixées, le rapport contient des indicateurs destinés à attirer votre attention.

Vous pouvez prendre en compte la qualité des données analytiques en enregistrant les conditions réelles qui prévalaient au moment des mesures. Le journal de la ChemStation enregistre les conditions des instruments avant et après une analyse. Cette information est stockée avec des données et rapportée avec les données d'échantillon. Les courbes de performance des instruments sont enregistrées pendant toute l'analyse en tant que signaux et stockées dans le fichier de données. Si l'instrument le permet, ces enregistrements, superposés sur le chromatogramme, peuvent être rappelés à la demande, par exemple lors d'un audit.

Le bruit et la dérive de la ligne de base peuvent être mesurés automatiquement. Un minimum détectable peut être calculé à partir d'une hauteur de pic pour chaque composé étalonné dans la méthode.

Finalement, il est possible d'inclure dans chaque rapport imprimé les éléments suivants : configuration d'instrument, numéros de série des instruments, identification des colonnes/le capillaire, et vos propres commentaires.

Les résultats de performances étendues ne sont calculés que pour les composés étalonnés dans la méthode, ce qui assure la caractérisation par les temps de rétention/migration et les noms de composés.

Un rapport type de test de performance système contient les résultats de performances suivants :

- les détails sur l'instrument,
- les détails sur la colonne/le capillaire,
- la méthode analytique,
- les informations sur l'échantillon,
- les informations sur l'acquisition,
- la description du signal et la détermination du bruit de la ligne de base, et
- le signal libellé avec des temps de rétention/migration ou des noms de composés.

En outre, les informations suivantes sont générées pour chaque composé étalonné dans le chromatogramme :

- les temps de rétention/migration,
- k' ,
- la symétrie,
- la largeur du pic,
- le numéro de plateau,
- la résolution,
- le rapport signal/bruit, et
- le nom du composé.

Détermination du bruit

Le bruit peut être déterminé à partir des valeurs de point de données provenant d'une gamme de temps sélectionnée pour un signal. Il est traité de trois manières différentes :

- équivalent à six fois l'écart type (sd, standard deviation) de la régression linéaire de la dérive,
- comme de pic à pic (dérive corrigée), et
- comme déterminé par la méthode ASTM (ASTM E 685-93).

Le bruit peut être calculé pour jusqu'à sept plages du signal ; les plages sont spécifiées dans le cadre des réglages d'équation du système dans les paramètres de rapport.

Calcul de bruit avec six fois l'écart type

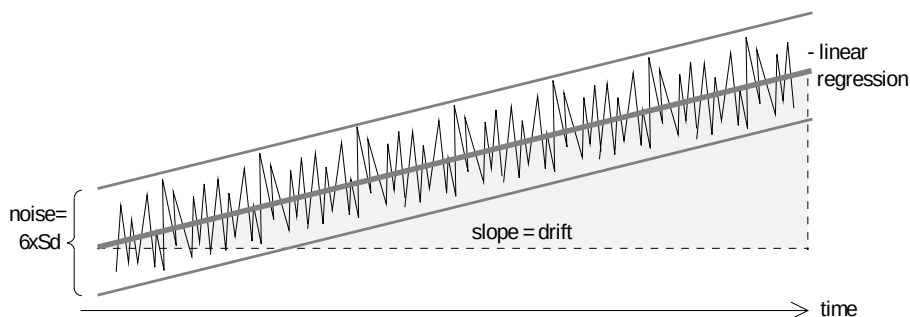


Figure 40 Bruit équivalent à six fois l'écart type

La régression linéaire est effectuée à l'aide de tous les points de données dans la plage de temps spécifiée (voir "[Analyse de régression](#)" page 256). Le bruit est donné par la formule :

$$N = 6 \times Std$$

où N est le bruit calculé avec six fois l'écart type, et Std est l'écart type de la régression linéaire de tous les points de données dans la plage de temps.

Calcul de bruit par la formule de pic à pic

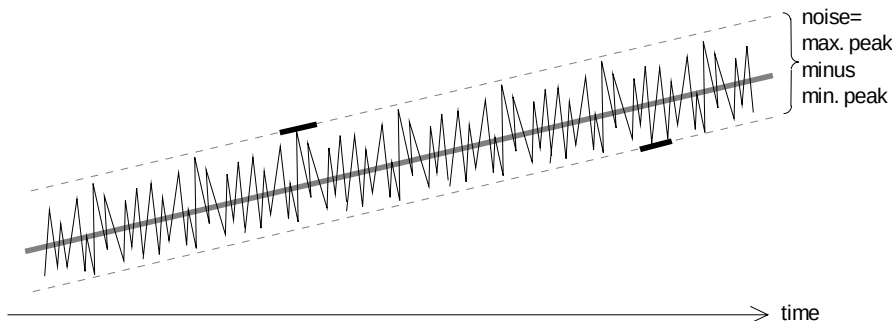


Figure 41 Bruit : pic maximum à pic minimum (distance)

La dérive est d'abord calculée en déterminant la régression linéaire à l'aide de tous les points de données dans la plage de temps (voir "[Analyse de régression](#)" page 256). La ligne de régression linéaire est ensuite soustraite de tous les points de données dans la plage de temps pour donner le signal corrigé de la dérive. Le bruit de pic à pic est ensuite calculé par la formule :

$$N = \frac{I_{max}}{I_{min}}$$

où N est le bruit de pic à pic, I_{max} est le pic d'intensité la plus élevée (maximale) et I_{min} le pic d'intensité la plus basse (minimale) dans la plage de temps.

Calcul de bruit par la méthode ASTM

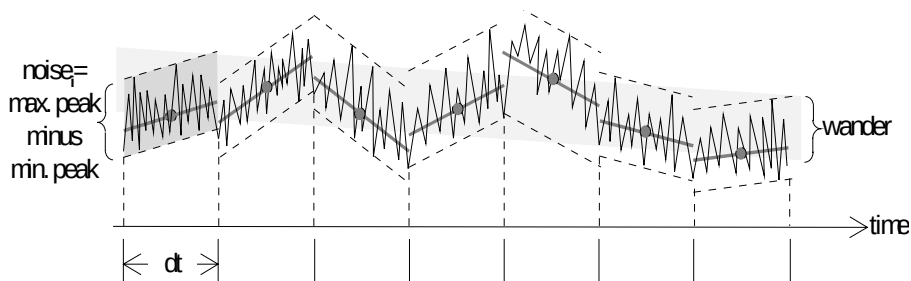


Figure 42 Bruit déterminé par la méthode ASTM

La détermination du bruit ASTM (ASTM E 685-93) est basée sur la pratique standard mise en oeuvre pour tester les détecteurs photométriques à longueurs d'onde variables utilisés en chromatographie en phase liquide, et définie par l'American Society for Testing and Materials. Trois types différents de bruit, basés sur la taille de la gamme de temps, peuvent être distingués. La détermination du bruit est basée sur la mesure de pic à pic dans des gammes de temps définies.

Temps de cycle, t

Bruit à long terme amplitude maximum pour tous les écarts aléatoires du signal du détecteur des fréquences entre 6 et 60 cycles par heure. Le bruit à long terme est déterminé lorsque la gamme de temps sélectionnée dépasse une heure. La gamme de temps pour chaque cycle (dt) est définie à 10 minutes, ce qui donnera au moins six cycles dans la gamme de temps sélectionnée.

Bruit à court terme amplitude maximum pour tous les écarts aléatoires du signal du détecteur de fréquence supérieure à un cycle par minute. Le bruit à court terme est déterminé pour une gamme de temps sélectionnée comprise entre 10 et 60 minutes. La gamme de temps pour chaque cycle (dt) est définie à une minute, ce qui donnera au moins 10 cycles dans la gamme de temps sélectionnée.

Bruit à très court terme (non inclus dans ASTM E 685-93) Ce terme est introduit pour décrire l'amplitude maximale pour tous les écarts aléatoires du signal du détecteur de fréquence supérieure à un cycle par 0,1 minute. Le bruit à très court terme est déterminé pour une gamme de temps sélectionnée comprise entre 1 et 10 minutes. La gamme de temps pour chaque cycle (Δt) est définie à 0,1 minute, ce qui donnera au moins 10 cycles dans la gamme de temps sélectionnée.

Détermination du nombre de cycles, n

$$n = \frac{t_{tot}}{t}$$

où t est le temps de cycle et t_{tot} le temps total sur lequel le bruit est calculé.

Calcul de bruit pic à pic dans chaque cycle

La dérive est d'abord calculée en déterminant la régression linéaire à l'aide de tous les points de données dans la plage de temps (voir "[Analyse de régression](#)" page 256). La ligne de régression linéaire est ensuite soustraite de tous les points de données dans la plage de temps pour donner le signal corrigé de la dérive. Le bruit de pic à pic est ensuite calculé par la formule :

$$N = \frac{I_{max}}{I_{min}}$$

où N est le bruit de pic à pic, I_{max} est le pic d'intensité la plus élevée (maximale) et I_{min} le pic d'intensité la plus basse (minimale) dans la plage de temps.

Calcul du bruit ASTM

$$N_{ASTM} = \frac{\sum_{i=1}^n N}{n}$$

où N_{ASTM} est le bruit calculé par la méthode ASTM.

Il n'y a pas de détermination de bruit ASTM si la gamme de temps sélectionnée se situe au-dessous d'une minute. Selon la gamme, si la gamme de temps sélectionnée est supérieure ou égale à une minute, le bruit est déterminé en utilisant l'une des méthodes ASTM précédemment décrites. Un minimum de sept points de données par cycle intervient dans le calcul. Les cycles dans la détermination de bruit automatisée présentent un chevauchement de 10 %.

Calcul de rapport signal sur bruit

Pour le calcul de rapport signal sur bruit, la ChemStation utilise six fois l'écart type (sd) de la régression linéaire de la dérive pour calculer le bruit. La plage la plus proche du pic est sélectionnée parmi les plages spécifiées dans les paramètres d'équation du système. Le rapport signal sur bruit est calculé par la formule :

$$\text{Signal-to-Noise} = \frac{\text{Height of the peak}}{\text{Noise of closest range}}$$

Le rapport signal sur bruit est calculé pour chaque pic du signal. Si la ChemStation ne trouve pas de valeur de bruit, le rapport signal sur bruit apparaît dans le rapport sous forme "-".

Dérive et variation à moyen terme

La dérive est donnée comme la pente de la régression linéaire, voir la [Figure 40](#) ; et la variation à moyen terme déterminée comme le bruit de pic à pic des valeurs médianes dans les cycles de bruit ASTM, voir la [Figure 42](#) page 239.

Calcul de la symétrie des pics

La ChemStation ne détermine pas le rapport d'asymétrie d'un pic, généralement obtenu en comparant les mi-hauteurs du pic à 10 % de la hauteur du pic, ou 5 % comme recommandé par la FDA.

La symétrie du pic est calculée comme un pseudo-moment par l'intégrateur, à l'aide des équations de moment suivantes :

$$m_1 = a_1 \left(t_2 + \frac{a_1}{1.5H_f} \right)$$

$$m_2 = \frac{a_2^2}{0.5H_f + 1.5H}$$

$$m_3 = \frac{a_3^2}{0.5H_r + 1.5H}$$

$$m_4 = a_4 \left(t_3 + \frac{a_4}{1.5H_r} \right)$$

$$\text{Peak symmetry} = \sqrt{\frac{m_1 + m_2}{m_3 + m_4}}$$

Si aucun point d'inflexion n'est trouvé, ou si un seul point d'inflexion est rapporté, la symétrie du pic est calculée de la manière suivante :

$$\text{Peak symmetry} = \frac{a_1 + a_2}{a_3 + a_4}$$

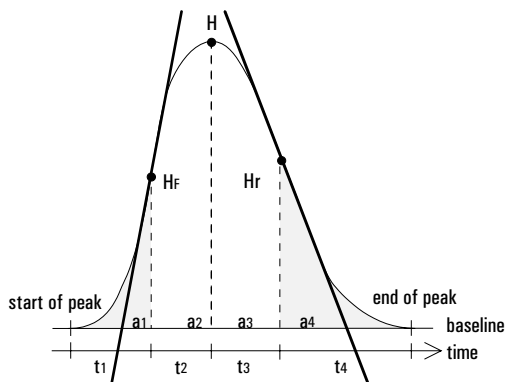


Figure 43 Calcul du facteur de symétrie du pic

avec :

a_i = aire de la tranche

t_i = temps de la tranche

H_f = hauteur du point d'inflexion avant

H_r = hauteur du point d'inflexion arrière

H = hauteur au sommet

Formules et calculs de vérification de performance du système

Pour obtenir les résultats pour les divers tests d'adéquation du système, la ChemStation utilise les formules suivantes. Les résultats sont fournis en utilisant les styles de rapport : Performance, Performance + Noise and Performance + Extended.

Lorsque ASTM ou USP est spécifié pour une définition donnée, la définition est conforme à celles qui ont été données dans la référence correspondante. Toutefois, les symboles utilisés ici peuvent être différents de ceux utilisés dans la référence.

Les deux références utilisées dans ce contexte sont les suivantes :

- *ASTM: Section E 682 - 93, Annual Book of ASTM Standards, Vol. 14.01*
- *USP: The United States Pharmacopeia, XX. Revision, pp. 943 - 946*

Définitions générales

Volume mort

$$V = d^2 \pi l (f/4)$$

avec :

d = diamètre de la colonne [cm]

π = constante, rapport circonférence/diamètre d'un cercle

l = longueur de la colonne [cm]

f = fraction du volume de la colonne qui n'est pas pris par la phase stationnaire mais disponible pour la phase mobile ; valeur par défaut pour f = 0.68 (pour Hypersil)

Temps de rétention du composant non retenu t (m) [min]

(Appelé aussi temps mort ou void time)

$$T_m = V/F$$

avec :

F = débit du CPL [ml/min]

Définitions des tests de performances

Moments statistiques

$$M0 = d_t \cdot X$$

$$M1 = t_0 + d_t \cdot \frac{X}{Y}$$

$$M2 = \frac{d_t^2}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^2 \cdot A_i \right)$$

$$M3 = \frac{d_t^3}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^3 \cdot A_i \right)$$

$$M4 = \frac{d_t^4}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^4 \cdot A_i \right)$$

avec :

N = nombre de tranches d'aires

A_i = valeur de la tranche d'aire indexée par i

d_t = intervalle de temps entre les tranches d'aires adjacentes

t_0 = temps de la première tranche d'aire

$\sum_{i=1}^N$ = somme de l'index de début 1 à l'index final N pour les observations discrètes

$$X = \sum_{i=1}^N (A_i)$$

$$Y = \sum_{i=1}^N ((i-1)A_i)$$

Moments statistiques, inclinaison et excès

Les moments statistiques sont calculés pour décrire d'une autre manière les formes de pics asymétriques. Le nombre de moments de pic est infini, mais seuls les cinq premiers sont utilisés en relation avec des pics chromatographiques. Ils sont appelés **0th Moment**, **1st Moment**, ... **4th Moment**.

Le **Moment 0**. représente l'aire du pic.

Le **Moment 1** est le temps de rétention moyen, ou temps de rétention mesuré au centre de gravité du pic. Il est différent du temps de rétention chromatographique mesuré au maximum du pic, sauf si le pic est symétrique.

Le **Moment 2** est la variance du pic qui est une mesure de l'étalement latéral. C'est la somme des contributions à la variance générée par les différentes parties du système instrument.

Le **Moment 3** décrit la symétrie verticale ou inclinaison. Il mesure l'éloignement de la forme du pic par rapport à l'étalon Gaussien. L'inclinaison donnée en plus dans le rapport Performance & Extended est sa forme sans dimension. Un pic symétrique a une inclinaison de zéro. Les traînes de pics ont une inclinaison positive et leur Moment 1 est supérieur au temps de rétention. Les pics sur la pente montante ont une inclinaison négative et leur Moment 1 est inférieur au temps de rétention.

Le **Moment 4** ou excès est une mesure de la compression ou de l'étirement du pic le long d'un axe vertical, et la façon dont il se compare à un étalon Gaussien pour lequel le Moment 4 est zéro. Il est possible de le visualiser en rapprochant ou en écartant les côtés d'un pic Gaussien, tout en maintenant une aire constante. Si le pic est comprimé ou écrasé vers le bas en comparaison, son excès est négatif. S'il est plus grand, son excès est positif. De même, l'excès est donné dans le rapport Performance & Extended dans sa forme sans dimension.

Largeur de pic vraie W_x [min]

W_x = width of peak at height x % of total height

Cas spéciaux :

- W_B** Largeur de base, 4 sigma, obtenus par intersection de la ligne de base avec les tangentes aux points d'inflexion (*largeur de pics aux tangentes*). Voir également [Figure 44](#) page 249.
- $W_{4,4}$** largeur à 4,4% de la hauteur (*largeur 5 sigma*)
- $W_{5,0}$** largeur à 5% de la hauteur (*largeur de pic avec traîne*), utilisée pour le facteur de traîne USP
- $W_{50,0}$** largeur à 50% de la hauteur (*largeur à mi-hauteur vraie* ou *2,35 sigma*). Voyez la [Figure 44](#) pour plus de détails.

Facteur de capacité (USP), Rapport de capacité (ASTM) k'

$$k' = \frac{T_R - T_0}{T_0}$$

avec :

T_R = temps de rétention du pic [min]

T_0 = temps mort - void time [min]

Facteur de traîne USP (USP) t

$$t = \frac{W_{5,0}}{t_w \cdot 2}$$

avec :

t_w = distance en min entre le début du pic T_R , mesuré à 5% de sa hauteur (voir la [Figure 44](#) page 249)

$W_{5,0}$ = largeur de pic à 5% de sa hauteur [min]

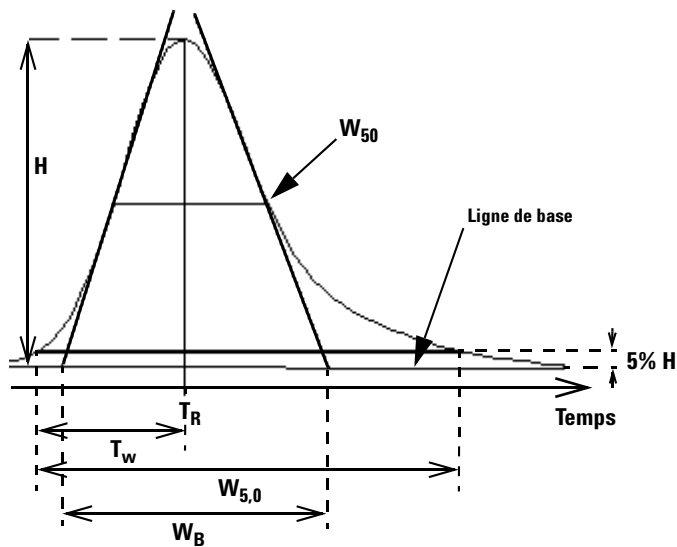


Figure 44 Paramètres de mesures des performances

Nombre de plateaux théoriques par colonne (USP, ASTM) n

Méthode tangente (USP, ASTM) :

$$n = 16 \left(\frac{T_R}{W_B} \right)^2$$

avec :

W_B = largeur de base [min] (voir Figure 44)

Méthode mi-largeur (ASTM) :

$$n = 5.54 \left(\frac{T_R}{W_{50}} \right)^2$$

avec :

W_{50} = largeur de pic à mi-hauteur [min] (voir [Figure 44](#))

méthode 5 sigma

$$n = 25 \left(\frac{T_R}{W_{4.4}} \right)^2$$

avec :

$W_{4.4}$ = largeur de pic à 4.4% de sa hauteur [min]

Méthode des variances :

$$n = \frac{M1^2}{M2}$$

avec :

M_x = x-ième moment statistique (voir aussi "[Moments statistiques](#)" page 246)

Nombre de plateaux théoriques par mètre N [1/m]

$$N = 100 \times \frac{n}{l}$$

avec :

n = nombre de plateaux théoriques

l = longueur de la colonne [cm]

Rétention relative (USP, ASTM), Sélectivité Alpha

(Appartenant aux pics a et b, T_R du pic a < T_R du pic b)

$$\alpha = \frac{k'_{(b)}}{k'_{(a)}}, \alpha \geq 1$$

avec :

$k'_{(x)}$ = facteur de capacité pour le pic x

Résolution (USP, ASTM) R

(Relatif aux pics a et b, T_R du pic a < T_R du pic b; T_R en min)

Méthode tangente (USP, ASTM) :

$$R = \frac{2(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{B(b)} + W_{B(a)}}$$

méthode 5 sigma

$$R = \frac{2.5(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{4.4(b)} + W_{4.4(a)}}$$

méthode mi-hauteur

$$R = \frac{(2.35/2)(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{50(b)} + W_{50(a)}}$$

méthode statistique

$$R = \frac{M1_{(b)} - M1_{(a)}}{W_{S(b)} + W_{S(a)}}$$

avec :

$M1_{(x)}$ = temps de rétention moyen du pic x (1er moment statistique) [min]

$W_{B(x)}$ = largeur de base du pic x [min]

$W_{4,4(x)}$ = largeur à 4,4% de la hauteur du pic x [min]

$W_{50(x)}$ = largeur à 50% de la hauteur du pic x [min]

$W_{S(x)}$ = largeur dérivée des moments statistiques = $\sqrt{(M2)}$ pour le pic x
(voir aussi "[Moments statistiques](#)" page 246) [min]

Définitions pour la reproductibilité

Pour l'examen statistique des données analytiques en termes de reproductibilité, on considère la séquence comme un petit échantillonnage aléatoire pris parmi l'infinité des possibilités de résultats expérimentaux. Pour obtenir des résultats complets il serait nécessaire d'exécuter les calculs sur un nombre infini d'échantillons et sur une durée infinie. Au sens strict du terme, les données statistiques ne s'appliquent qu'à une population complète et définitive de données. Il en résulte que la condition nécessaire pour pratiquer un traitement statistique valable, est que l'échantillon soit représentatif de l'ensemble des données.

Moyenne de l'échantillon M

La valeur moyenne M d'un échantillon aléatoire constitué de N mesures est calculée à partir du nombre limité N de valeurs discrètes observées X_i indexées en ordre consécutif i selon la formule :

$$M = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

avec :

N = nombre d'observations discrètes

X_i = valeur des observations discrètes indexée par i

Echantillon Ecart type S

Considérons un échantillonnage aléatoire de taille N. L'écart type S de l'échantillon évalué avec un nombre fini d'échantillons pris parmi une grande population de données est déterminé par :

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - M)^2}{N - 1}}$$

L'écart type S de l'échantillonnage diffère de l'écart type de toute la population de données par les points suivants :

- la valeur moyenne est utilisée à la place de la moyenne réelle des échantillons et
- on divise par N-1 au lieu de N.

Coefficient de variation RSD[%] (USP)

Le coefficient de variation est défini comme

$$RSD = 100 \frac{S}{M}$$

Écart type de la moyenne S_M

Soient M la moyenne de l'échantillonnage et S l'écart type de l'échantillonnage [ou écart type (N-1)]. L'écart type S_M de la moyenne M est déterminé par

$$S_M = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

Un exemple nous permettra de mieux illustrer notre propos :

Tandis que le temps de rétention d'un certain composé peut, pendant une même séquence, varier légèrement autour de la moyenne calculée pour cette séquence, les données provenant d'une autre séquence pourraient en différer notablement par exemple suite à un changement de température ambiante, une dégradation de la colonne etc. pour déterminer cet écart, l'écart type de la moyenne S_M peut être calculé selon la formule précédente.

Confiance CI

L'intervalle de confiance est calculé pour apprécier la qualité de l'estimation d'une moyenne lorsqu'on l'applique à toute une population et non pas seulement à un échantillonnage.

Le $100 \cdot (1 - \alpha) \%$ intervalle de confiance (relatif) pour l'ensemble de la population est donné par :

$$CI = t_{(\alpha/2); N-1} \cdot S_M$$

avec :

$$t_{(\alpha/2); N-1}$$

pourcentage : de la table de distribution t avec une probabilité d'erreur de : α

Pour les statistiques étendues du rapport récapitulatif de séquence, l'intervalle de confiance de 95% peut être utilisé ($\alpha = 0.05$).

La distribution t (ou 'distribution de Student') doit être utilisée pour un petit nombre d'échantillons. Pour un grand nombre d'échantillons, les résultats de la distribution t et de la distribution normale (gaussienne) sont identiques. En conséquence, au delà de 30 échantillons, la distribution normale peut être utilisée en lieu et place de la distribution de Student (il devient extrêmement difficile de calculer la distribution t pour un grand nombre d'échantillons ; la distribution normale est une excellente approximation).

intervalle de confiance de 95% pour 6 échantillons :

$$1 - \alpha = 0,95$$

11 Evaluation de l'adéquation du système

Définitions pour la reproductibilité

$$N = 6$$

la valeur correcte de t doit être prise dans la table de distribution t pour 5 (N-1) degrés de liberté et pour la valeur $\alpha/2$, étant égal à 0,025. Cela donnerait pour CI la formule de calcul suivante :

$$CI = 2.571 \cdot \frac{1}{\sqrt{6}} \cdot S_M$$

Analyse de régression

Soit

N = nombre d'observations discrètes

X_i = variable indépendante, i^e observation

Y_i = variable dépendante, i^e observation

Fonction linéaire : $y_{(X)} = a + bX$

Coefficients :

$$a = \frac{1}{\Delta_X} \left(\sum_{i=1}^N X_i^2 \cdot \sum_{i=1}^N Y_i - \left(\sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i \right) \right)$$

$$b = \frac{1}{\Delta_X} \left(N \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \left(\sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N Y_i \right) \right)$$

avec :

$$\Delta_X = N \cdot \sum_{i=1}^N X_i^2 - \left(\sum_{i=1}^N X_i \right)^2$$

Coefficient de régression

$$r = \frac{\left(N \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N Y_i \right)}{\sqrt{\Delta_X \cdot \Delta_Y}}$$

avec :

$$\Delta_Y = N \cdot \sum_{i=1}^N Y_i^2 - \left(\sum_{i=1}^N Y_i \right)^2$$

Ecart type (S)

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - a - bX_i)^2}{N - 2}}$$

Accès aux nombres internes enregistrés en double précision

Pour des raisons de validation, il peut être nécessaire de recalculer manuellement certains résultats de la ChemStation, par exemple des courbes d'étalonnage, des coefficients de corrélation, un nombre de plateaux théoriques, etc. Il devient alors nécessaire de tenir compte du format interne des nombres de ChemStation.

Pour tous les nombres enregistrés par la ChemStation, le format interne de type "C" DOUBLE est utilisé. Cela signifie que 14 chiffres significatifs sont enregistrés pour chaque nombre. L'implémentation de ce type de données est conforme à l'implémentation de Microsoft de la norme IEEE pour les nombres de type "C" ainsi qu'aux règles associées (voir les documents Microsoft Q42980, Q145889 et Q125056).

Etant donné le nombre non limité de paramètres qui peuvent être utilisés pour le calcul d'une table d'étalonnage, il n'est pas possible de calculer exactement l'erreur qui résulte des arrondis et de leur accumulation. Des tests poussés, conduits sur les différents types de courbe d'étalonnage, ont cependant montré qu'une précision de 10 chiffres significatifs peut être garantie. En considérant que les aires, les hauteurs et les temps de rétention font généralement preuve d'une répétabilité de 3 chiffres significatifs, une précision de 10 chiffres sur le résultat est suffisante. C'est la raison pour laquelle, les tables en général, et les tables d'étalonnage en particulier s'affichent avec un maximum de 10 chiffres significatifs.

Si un calcul de validation externe (manuel) est nécessaire, il est recommandé que tous les chiffres significatifs internes soient utilisés pour les calculs externes. En raison des erreurs d'arrondi supplémentaires, l'utilisation des chiffres affichés et/ou arrondis pour effectuer des calculs externes peut conduire à des résultats différents de ceux de la ChemStation.

Le paragraphe suivant indique comment accéder à la totalité des chiffres significatifs internes nécessaires pour les calculs manuels externes. Dans tous les cas, il est nécessaire d'ouvrir un fichier de données et de sortir le rapport adéquat avant d'exécuter les commandes indiquées ci-après. Toutes les commandes sont saisies sur la ligne de commande de la ChemStation (rendue accessible à partir de la vue menu). Les informations contenues dans le fichier "C:\CHEM32\TEMP.TXT" peuvent être examinées au moyen d'un éditeur de texte comme p. ex. NOTEPAD (le bloc-notes Windows).

Données des pics bruts :

- Temps de rétention
- Aire
- Hauteur
- Largeur (intégrateur)
- Symétrie
- Temps de début de pic
- Temps de fin de pic

Entrez sur la ligne de commande :

DUMPTABLE CHROMREG, INTRESULTS, "C:\CHEM32\1\TEMP\INTRES.TXT"

Données des pics traités :

- Temps de rétention mesuré
- Temps de rétention attendu
- Aire
- Hauteur
- Largeur (intégrateur)
- Symétrie
- Largeur à mi-hauteur - mi-hauteur de pic (Performance & Performance étendue (Extended))
- Facteur de traîne (Performance & Performance étendue)
- Sélectivité (Performance & Performance étendue)
- K' (Performance étendue)
- Largeur de pic aux tangentes (Performance étendue)
- Inclinaison (Performance étendue)
- Nombre de plateaux théoriques - mi-hauteur (Performance & Performance étendue (Extended))
- Nombre de plateaux théoriques - tangentes (Performance étendue)
- Nombre de plateaux théoriques - 5-Sigma (Performance étendue)
- Nombre de plateaux théoriques - statistiques (Performance étendue)

11 Evaluation de l'adéquation du système

Accès aux nombres internes enregistrés en double précision

- Résolution - mi-hauteur (Performance & Performance étendue)
- Résolution - tangentes (Performance étendue)
- Résolution – 5-Sigma (Performance étendue)
- Résolution - statistiques (Performance étendue)

Entrez sur la ligne de commande :

```
DUMPTABLE CHROMRES, PEAK, "C:\CHEM32\1\TEMP\PEAK.TXT"
```

Données des composés traités :

- Quantité calculée

Entrez sur la ligne de commande :

```
DUMPTABLE CHROMRES, COMPOUND, "C:\CHEM32\1\TEMP\COMPOUND.TXT"
```

Données des tables d'étalonnage :

- Numéro de niveau (Level)
- Quantité
- Aire
- Hauteur

Entrez sur la ligne de commande :

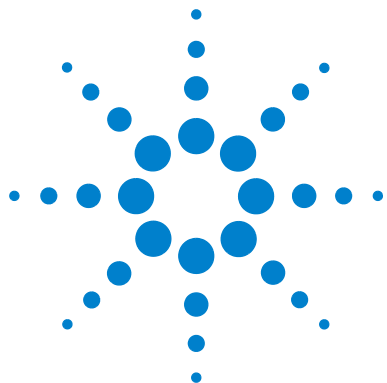
```
DUMPTABLE _DAMETHOD, CALPOINT, "C:\CHEM32\1\TEMP\CALIB.TXT"
```

Données de régression linéaire :

- Ordonnée à l'origine (Y-Intercept), (paramètre de la courbe CurveParm1)
- Pente, (paramètre CurveParm2)
- Coefficient de corrélation

Entrez sur la ligne de commande :

```
DUMPTABLE _DAMETHOD, PEAK, "C:\CHEM32\1\TEMP\REGRESS.TXT"
```



12 Vérification du système

Vérification du système [262](#)

Vues de vérification et de diagnostic [265](#)

Le registre GLPsave [266](#)

Fonction de test du détecteur à barrette de diodes [268](#)

Fonction Review DAD Test [268](#)



Vérification du système

La vérification du système joue un rôle important dans l'utilisation en routine d'un instrument d'analyse dans un laboratoire accrédité. Les fonctions de vérification BPL de la ChemStation permettent de s'assurer que l'instrument, ou l'un de ses composants, fonctionne parfaitement, ou fonctionnait parfaitement au moment d'une analyse particulière.

La fonction Verification de la ChemStation permet de vérifier le bon fonctionnement de votre logiciel ChemStation. Pour cela, vous pouvez retraiter des fichiers de données d'après des méthodes spécifiques et comparer les résultats à un étalon prédéfini. La vérification est particulièrement importante pour démontrer l'intégrité de l'intégration et des résultats de quantification.

Vous pouvez utiliser le test de vérification standard, ou définir vos propres tests en utilisant différents fichiers de méthodes et de données. Le test de vérification est un fichier protégé qui ne peut être ni modifié ni supprimé.

La rubrique Vérification dans la vue d'analyse des données vous permet de choisir l'une des options suivantes :

- exécution d'un test de vérification dans la base de données,
- définition d'un nouveau test de vérification et son adjonction à la base de données, et
- suppression d'un test de vérification de la base de données.

La section «Comment faire pour...» du système d'aide en ligne décrit l'exécution de ces tâches. Lorsque vous effectuez un test de vérification de la ChemStation, vous pouvez effectuer le test en totalité ou sélectionner une combinaison de ses éléments.

Les résultats du test sont enregistrés en format binaire dans le sous-répertoire : c:\chem32\1\Verify, conjointement aux fichiers de méthodes et de données. Le sous-répertoire Verify se trouve au même niveau que les sous-répertoires de séquence, de méthodes et de données. Les résultats du test peuvent être imprimés ou enregistrés dans un fichier. Les résultats du test, y compris un résultat de test de vérification combinée, sont considérés concluants ou non concluants.

Les composants de test de vérification suivants sont disponibles :

Electronique numérique (détecteur à barrette de diodes Série Agilent 1100 seulement)

Un chromatogramme test est stocké dans le détecteur à barrette de diodes. Il est envoyé à la ChemStation après être passé par les mêmes étapes de prétraitement que les données brutes normales provenant des photodiodes. Les données résultantes sont comparées aux données de résultat d'origine stockées dans la ChemStation pour ce chromatogramme test. En cas de discordance, le test échoue. Ce test permet de s'assurer que l'électronique du détecteur à barrette de diodes qui effectue le prétraitement des données, fonctionne toujours correctement. Comme un programme de test stocké est utilisé, la lampe ou la barrette de diodes ne font pas partie de ce test. Elles peuvent être vérifiées avec la ["Fonction de test du détecteur à barrette de diodes"](#) page 268.

Intégration des pics

Le fichier de données est intégré à nouveau par la méthode originale. Les résultats sont comparés aux résultats d'intégration d'origine stockés dans le registre de vérification. S'ils ne correspondent pas, le test échoue.

Quantification des composés

Les composés dans le fichier de données sont à nouveau quantifiés. Les résultats sont comparés aux résultats de quantification d'origine stockés dans le registre de vérification. S'ils ne correspondent pas, le test échoue.

Impression du rapport

Le rapport d'origine est imprimé à nouveau.

La page suivante montre un exemple de test de vérification passé avec succès.

```
=====
ChemStation Verification Test Report
=====
```

Tested Configuration:

Component	Revision
ChemStation for LC 3D ChemStation	B.01.01
Microsoft Windows	Microsoft Windows XP
Processor	Processor_Architecture_Intel
CoProcessor	yes

ChemStation Verification Test Details:

```
Test Name : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL
Data File : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL\VERIFY.D
Method    : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL\VERIFY.M
Original Datafile      : VERIFY.D
Original Acquisition Method : VERIFY.M
Original Operator      : Hewlett-Packard
Original Injection Date : 4/16/93 11:56:07 AM
Original Sample Name   : Isocratic Std.
```

Signals Tested:

```
Signal 1: DAD1 A, Sig=254,4 Ref=450,80 of VERIFY.D
```

ChemStation Verification Test Results:

Test Module	Selected	For Test	Test Result
Digital electronics test	No		N/A
Integration test	yes		Pass
Quantification test	yes		Pass
Print Analytical Report	No		N/A

ChemStation Verification Test Overall Results: Pass

Vues de vérification et de diagnostic

Si les instruments le permettent (par exemple, les modules de la série Agilent 1100 pour CPL) la ChemStation comprend deux autres vues qui permettent d'effectuer des tâches de vérification et de diagnostic des instruments. Pour plus d'informations, voir le système d'aide en ligne et le manuel *Vérification des Performances*.

Le registre GLPsave

Le registre GLPsave est enregistré à la fin de chaque analyse, quand il est sélectionné dans la liste de contrôle d'exécution. Il contient les informations suivantes :

- signaux,
- journal,
- table des résultats d'intégration,
- table des résultats de quantification,
- données de performances des instruments, et
- méthode d'analyse des données.

Ce registre est un enregistrement protégé complet, généré au moment de l'analyse. Vous pouvez le rappeler à tout moment par la suite comme preuve de vos méthodes analytiques.

L'option GLPsave Register dans la vue Data Analysis vous permet d'examiner à tout moment le fichier du registre GLPsave. Ce fichier est protégé par un total de contrôle et codé en binaire pour empêcher tout changement.

Dans la boîte de dialogue utilisée pour sélectionner le registre GLPsave pour l'examiner, vous pouvez choisir entre les options d'examen suivantes :

- charger la méthode d'origine,
- charger les signaux d'origine,
- charger les données de performance de l'instrument,
- imprimer la méthode originale,
- imprimer les résultats d'intégration originaux,
- imprimer les résultats de quantification originaux, et
- générer le rapport original à partir de la méthode et des signaux d'origine.

Vous pouvez utiliser la fonction GLP review (Examen du GLP) pour montrer que les données chromatographiques sont originales, prouver la qualité de l'analyse à partir des données de performance de l'instrument et démontrer l'authenticité de l'interprétation des données.

Par exemple, vous pouvez :

- recharger et réimprimer la partie d'analyse des données de la méthode utilisée au moment de l'analyse de l'échantillon, pour prouver que l'évaluation des données, présentée comme résultat de l'analyse, n'a été en rien modifiée, et
- examiner, sans recalculer, les résultats d'intégration et de quantification, pour prouver l'authenticité du rapport.

Fonction de test du détecteur à barrette de diodes

Les tests du détecteur peuvent constituer une étape dans la validation de routine d'un instrument d'analyse dans un laboratoire accrédité.

Le test du détecteur à barrette de diodes (DAD) évalue les performances de celui-ci. Quand vous sélectionnez le test DAD dans le menu Instrument (pour CPL3D et EC seulement), il vérifie l'intensité et l'étalonnage de longueur d'onde de l'instrument. Quand vous appuyez sur Save, les résultats du test sont automatiquement enregistrés dans la base de données DADTest, un fichier registre appelé DADTest.Reg situé dans le répertoire par défaut de l'instrument.

Fonction Review DAD Test

La fonction Review DAD Test dans le menu View de l'analyse des données vous permet d'examiner le fichier DADTest.Reg à tout moment. Ce fichier est protégé par un total de contrôle et codé en binaire pour empêcher tout changement.

Vous pouvez sélectionner l'un des éléments suivants du test DAD pour examen :

Show Holmium Spectra

Trace tous les spectres holmium listés dans la table d'examen du test DAD. Le spectre actif est marqué.

Show Intensity Spectra

Trace tous les spectres d'intensité listés dans la table d'examen du test DAD. Le spectre actif est marqué.

Save as New Database

Si vous changez la lampe de votre détecteur à barrette de diodes, vous pouvez réinitialiser le DADTest en supprimant tout résultat de test indésirable de la table, puis en utilisant la fonction "Save As New Database".

Show Selected Spectra

N'affiche que les spectres que vous avez sélectionnés dans la table.

Show Intensity Graph

Vous pouvez tracer un graphe d'intensité pour donner une indication de la longévité de la lampe de votre détecteur à barrette de diodes. Le graphe donne une fonction d'intensité maximum de lampe par rapport au temps.

12 Vérification du système

Fonction de test du détecteur à barrette de diodes

Indice

A

- à blanc
 - analyse, 184
- absolu
 - facteur de réponse, 126
 - temps de rétention, 140, 141
- acquisition des données, 29
 - définition, 68
- aide en ligne, 45
- aire de pic, 111
- aire%
 - calcul, 128
 - rapport, 221
- ajustements
 - courbe, 162
 - non linéaires, 160
- analyse
 - justesse, 168
- analyse de régression, 256
- analyses des données
 - intégration, 31
 - personnalisée, 64
 - quantification, 33
 - rapport spécifique, 34
 - rapport standard, 33
- approximation de front de pic, 107
- arrêt
 - séquence, 178
- attribution de ligne de base, 82, 97
- automatique
 - fermeture, 186
 - recherche dans les bibliothèques, 64
 - ré-étalonnage, 187
 - revue des lots, 212
- automatisation, 39, 171
 - définition, 173

B

- bonnes pratiques de laboratoire, 40

C

- calcul
 - ESTD, 130
 - étalonné, 129
 - ISTD, 133
 - non étalonné, 128
 - Norm%, 132
 - quantification, 125
 - symétrie des pics, 242
- calcul de rapport signal sur bruit, 241
- calcul du pourcentage, 128
- calculs non étalonnés, 128
- ChemStation
 - description générale, 18
 - personnalisation, 38
- CI, 255
- codes de séparation des pics, 109
- composé, 152
- confiance, 249, 255
- configuration, 23
- construction de ligne de base, 97
- contrôle des instruments, 44
 - mise en réseau, 44
- courbe
 - ajustements, 162
 - étalonnage, 154

- courbe d'étalonnage
 - ajustements, 162
 - définition, 154
 - description, 154
 - forcer à partir de zéro (origine), 162
 - multipoint, 158
 - pondération des points d'étalonnage, 162
 - types, 157
 - un seul point, 157
- courbe d'étalonnage à un seul point
 - séquences cycliques, 193
- courbe d'étalonnage
 - multipoint, 158
 - un seul point, 157
- critères d'approximation, 104

D

- début de pic, 84
- définitions des tests de linéarité, 253
- définitions pour la reproductibilité, 250
- delta%, 190
- dérive
 - réponse, 200
- dérivée, 81, 89
- destination
 - rapport, 227
- détection d'épaulement, 114
- détermination du bruit, 237, 239
- détermination du bruit ASTM, 239
- distribution t, 255
- document utilisateur, 45
- documentation, 45

E

- écart type
 - de la moyenne, 254
 - définition, 257
 - échantillon, 254
 - relatif, 254
- échantillon
 - étalonnage, 152, 159
 - inconnu, 156
 - prioritaire, 178
 - quantité, 127
- échantillon prioritaire, 178
- en ligne
 - moniteurs, 70
- enregistrement des données BLP, 65
- épaulement, 86, 95
- erreurs
 - séquence, 181
- ESTD
 - calcul, 130
 - procédure, 130
 - rapport, 220, 221
- étalon
 - externe, 130
 - interne, 133
 - ré-étalonnage avec flacons multiples, 205
- étalon externe, 130
- étalon interne, 133
- étalonnage, 152
 - "Round-Robin", 205
 - ajustements de la courbe, 162
 - composé, 152
 - courbe, 154
 - cyclique, 193
 - cyclique multipoint, 194
 - échantillon, 152, 159
 - explicite, 192
 - fonctionnement de la séquence délimitée, 202
 - fréquence, 190
 - gammes, 160

- multipoint, 158
 - niveau, 152
 - paramètres, 136
 - point, 152
 - séquence, 189
- étalonnages multipoints, 133
- étalons multiples, 202
- état
 - fenêtre, 73
 - instrument, 73
- état standby, 186
- événements chrono-programmés, 117
- événements d'intégration, 80, 114
- extrapolation, 160, 201

F

- facteur de dilution, 126, 131
- facteur de normalisation, 133
- facteur de réponse
 - absolu, 126
 - mise à jour, 188
- facteur de traîne, 248
- facteur de traîne USP, 248
- facteurs de correction, 126
- fenêtre de référence, 142
- fenêtre de temps
 - rétenion/migration, 141
- fermeture
 - automatique, 186
 - macro, 186
 - système, 186
- fichier
 - méthode, 60
- fichier de méthode
 - paramètres de l'instrument, 60
- fichier journal
 - séquence, 181
- fichiers de données, 211
- filtre
 - reconnaissance de pic, 89
- fin du pic, 84

- fonction après séquence, 186
- formats de fichiers
 - rapport de lot, 214
 - résultats de rapports, 227
- formules
 - définitions des tests de performances, 246
 - définitions générales, 245
- formules de vérification de performance du système
 - analyse de régression, 256
 - coefficient de régression, 257
 - écart type, 250, 257
 - facteur de capacité, 248
 - facteur de traîne USP, 248
 - largeur du pic, 248
 - moyenne, 250
 - nombre de plateaux, 249
 - résolution, 251
 - rétenion relative, 251
 - RSD, 254
 - temps de rétenion, 245
 - temps mort, 245
 - volume mort, 245

G

- gammes
 - étalonnage, 160
- généralités sur le logiciel
 - configuration du système, 23
 - méthodes et séquences, 23
 - modèle de données, 24
 - système d'exploitation, 23
- GLPSave.Reg, 65
 - enregistrement avec la méthode, 65
- graduations, 77

H

- hauteur%
 - calcul, 128
 - rapport, 221

I

- identification des pics
 - définition, 138
 - types, 140
- inclinaison, 247
- instrument
 - état, 73
 - réponse extrapolation, 200
- intégration, 63
 - graduations, 77
 - tableau des résultats, 63
- intégration automatique, 118
- intégration manuelle, 120
- intégration tangentielle, 102
- interruption
 - séquence, 178
- intervalle
 - ré-étalonnage, 190
- ISTD
 - calcul, 133
 - procédure, 133
 - rapport, 220
 - trouver les pics, 148

J

- journal, 71
- justesse
 - analyse, 168

L

- largeur du pic, 83, 88, 115, 116
 - à la hauteur x%, 248
 - tangente, 248
- largeur initiale de pic, 114
- ligne de base initiale, 80, 81
- limites de contrôle, 211
- limites de quantité, 140, 158
- lot
 - configuration, 211
 - rapport, 212
 - table des composés, 211

M

- macro
 - fermeture, 186
- manuels, 45
- messages d'erreur, 71
- messages d'événement, 71
- méthode
 - attente, 186
 - création, 57
 - définition, 52
 - état, 73
 - fonctionnement, 62
 - GLPSave.Reg, 65
 - information, 53
 - intégration, 63
 - modification, 58
 - modifier, 57
 - parties, 53
 - recherche dans les bibliothèques, 64
 - répertoire, 60
 - résumé du fonctionnement, 66
 - vérification de la pureté des pics, 64
- mise à jour
 - facteur de réponse, 188
 - temps de rétention, 188
- moments statistiques, 247
- moniteur
 - état de l'instrument, 73
 - signal, 70
- multiples
 - pics de références, 144
- multiplicateur, 126, 131
- multipoint
 - étalonnage, 158
 - séquences cycliques, 194

N

- no update (pas de mise à jour), 189
- nom
 - fichier de séquence, 183
- nombre de plateaux, 249

- non linéaires
 - ajustements de la courbe, 160
- Norm%
 - calcul, 132
 - rapport, 132, 221
- not ready timeout, 186

O

- origine
 - connecter, 162
 - forcer, 162
 - ignorer, 162
 - inclure, 162
 - traitement, 162

P

- pause
 - séquence, 179
- pénétration de la ligne de base, 99
- pente, 86
- performance du système
 - limites, 235
 - statistiques, 234
- performances
 - définitions des tests, 246
- personnalisation, 38
 - analyses des données, 64
- personnalisée
 - rapports, 36
- pic
 - fenêtres des temps de rétention, 142
 - hauteur, 128
 - identification, 63, 138
 - processus d'identification, 148
 - pureté de pic, 64
 - qualificateurs, 139, 140, 145
 - quantification, 63, 124
 - règles de correspondance, 139
 - réponse, 146
 - symétrie, 242
 - temps de rétention, 143

pics de référence uniques, 143
 pics de références
 multiples, 144
 trouver, 148
 unique, 143
 utilisation, 143
 pics de solvant, 85, 112
 pics fusionnés, 95
 pics négatifs, 83
 pics non attribués, 108
 pics non identifiés
 classification, 148
 ré-étalonnage, 169
 poids
 égal, 162
 linéaire, 162
 points d'étalonnage, 162
 quadratique, 162
 points cardinaux, 84, 85
 post-analytique
 commande, 65
 macro, 65
 pré-analytique
 commande, 62
 macro, 62
 précision
 format des nombres, 258

Q

qualificateurs, 145
 quantification
 calculs, 125
 définition, 124
 procédure ESTD, 130
 procédure ISTD, 133

R

rapport
 aire%, 221
 définition, 218
 destination, 227
 ESTD, 220, 221
 étalonné, 219
 formats de fichiers, 227
 hauteur%, 221
 non étalonné, 219
 Norm%, 221
 personnalisée, 36
 résumé de séquence, 35
 style, 223
 tableaux, 37
 rapport d'adéquation du système
 extended performance, 35
 rapport de performance, 34
 style Performance and Noise, 34
 rapport de lot
 formats de sortie, 214
 rapport hauteur traîne, 105
 rapport hauteur vallée, 105
 rapport pic vallée, 100
 rapport résumé de séquence, 35, 229
 analysis reports, 230
 configuration, 230
 header, 230
 journal, 230
 méthodes, 230
 résumé summary, 232
 spécification de sortie, 232
 statistics, 231
 tableau de séquence, 230
 rapports
 performance du système, 34
 rapports d'adéquation du système, 34
 rapports de résultats, 219
 rapports tableaux, 37
 recherche dans les bibliothèques, 64
 reconnaissance de pic, 92
 filtre, 89
 ré-étalonnage, 168
 automatique, 187
 average (moyenne), 189
 complet, 169
 définition, 168
 intervalle, 190
 partiel, 169
 pics non identifiés, 169
 pourquoi, 168
 temps de rétention, 169
 ré-étalonnage cyclique, 205
 ré-étalonnage partiel, 169
 régression
 coefficient de régression, 257
 regroupement, 90
 rejet d'aire, 114
 rejet de hauteur, 114, 116
 répertoire
 méthode, 60
 structure, 47
 replace (remplacer), 189
 réponse, 124, 156
 dérive, 200
 détecteur, 157
 ratio, 146
 réponse du détecteur, 157, 159, 219
 résiduel
 écart type, 155
 relatif, 155
 résolution, 251
 résultats
 quantitatifs, 221
 résultats, rapports, 219
 rétention relative, 251
 revue des lots, 210
 automatique, 212
 historique, 214
 interface utilisateur, 212
 manuelle, 214

run time checklist, boîte de dialogue, 55, 59, 61
 acquisition des données, 62
 analyses des données, 63
 commande post-analytique, 65
 commande pré-analytique, 62
 enregistrement des données BLP, 65
 macro post-analytique, 65
 macro pré-analytique, 62
 sauvegarde d'une copie de la méthode, 65

S

sensibilité de pente, 114
 séquence
 analyse à blanc, 184
 arrêt, 178
 création, 177, 178
 définition, 174
 délimitée, 200
 enregistrement, 178
 erreurs, 181
 étalonnage, 189
 étalonnage cyclique, 193, 194
 étalonnage explicite, 192
 fichier journal, 181
 flacons d'échantillon, 183
 interruption, 178
 modification, 178
 nom de fichier, 183
 paramètres de ré-étalonnage, 188
 pause, 179
 ré-étalonnage, 188
 séquence, 200
 sous-répertoire, 49
 tableau, 176
 séquences d'étalonnage, 192
 signal
 analogique, 68
 détails, 54
 moniteur, 70
 numérique, 68
 signal analogique, 68
 signal numérique, 68

sommet, 80
 sommet du pic, 84, 94
 style
 rapport, 223
 suivi de la ligne de base, 81, 100
 suivi de ligne de base (sans pénétration), 99
 système
 état, 72
 fermeture, 186
 messages, 71

T

table de lot, 211
 configuration, 211
 rapport standard, 213
 type d'échantillon enlevé, 211
 table de sommation des pics, 226
 table des composés, 211
 tableau d'étalonnage, 138
 définition, 153
 tableau de séquence
 ré-étalonnage, 188
 temps de début, 80
 temps de fin, 80
 temps de rétention
 absolu, 140, 141
 corrigé, 140, 143
 mise à jour, 188
 ré-étalonnage, 169
 temps de rétention corrigé, 140, 143
 temps de rétention du composé non retenu, 245
 temps de rétention fenêtres, 142
 temps mort, 245

V

vérification, 262
 sous-répertoire, 49
 vérification de la pureté des pics, 64
 vérification du système, 262
 volume mort, 245

Contenu du manuel

Ce manuel décrit les différents concepts utilisés par la ChemStation Agilent. Son but est d'étendre votre compréhension sur la façon dont fonctionne la ChemStation.

Pour plus d'informations sur l'utilisation de la ChemStation, consultez le système d'aide ou la carte " Prise en main " livrés avec les manuels.

© Agilent Technologies 2004, 2005

Imprimé en Germany
05/05



G2070-93121



Agilent Technologies